



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA BACTERIANA DE DOENTES
PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPORTADAS E
IMPLANTOSUPORTADAS**

Trabalho submetido por
Raquel Ventura Lucas
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Outubro de 2014



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA BACTERIANA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPOORTADAS E IMPLANTOSUPOORTADAS

Trabalho submetido por
Raquel Ventura Lucas
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Ignácio Barbero

e coorientado por
Prof. Doutor Paulo Maurício e Mestre Teresa Nascimento

Outubro de 2014

Ao meu *avô Eduardo*,
Que Deus Nosso Senhor o guarde!

AGRADECIMENTOS

Começo por agradecer a orientação prestada nesta última etapa da minha vida académica à Mestre Teresa Nascimento, Prof. Doutor Paulo Maurício e Prof. Doutor Ignácio Barbero.

Igualmente ao Prof. Doutor Sérgio Félix, um agradecimento especial por me ter incluído neste grupo de investigação e pela disponibilidade e confiança mostradas.

Um particular agradecimento à Mestre Joana Carvalho, pela disponibilização dos dados da sua tese de Mestrado sem os quais a realização deste estudo comparativo teria sido impossível e também pelo apoio e carinho recebido nestes 5 anos académicos.

Aos Mestres José Reis, Sónia Silvério e João Coelho, aos Senhores Higienistas Tiago Almeida e Carlos Capelas, a minha gratidão pelo auxílio nas recolhas das colheitas necessárias.

Por toda a ajuda preciosa, ensinamentos transmitidos, tempo disponibilizado e momentos divertidos passados no laboratório, um sincero reconhecimento às sempre bem-dispostas funcionárias, em especial à Sandra.

À “LX Clinic” e ao Mestre Tomás Amorim um obrigado pelas possibilidades oferecidas e confiança depositada.

A todos os participantes do estudo agradeço a disponibilidade e, ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz a autorização para a sua realização, assim como o suporte bibliográfico e material laboratorial. Um agradecimento à Clínica Universitária de Medicina Dentária Egas Moniz, ao Centro Médico Dentário de Mafra e à Clínica de Reabilitação Oral Avançada, pela possibilidade de recolha de dados.

Aos meus pais, irmãos, avós e madrinha, por serem o pilar da minha vida e por fazerem de mim o que sou hoje, tanto a nível pessoal como profissional. À tia pelo apoio; à mãe, por conseguir inverter a espiral; ao pai, por me proporcionar este curso.

Ao Bruno Neto, por toda a amizade e apoio incondicional, à Rita, por toda a motivação e à Mariana, pela compreensão, divertimento e por ser a melhor dupla!

RESUMO

Objetivos: Este estudo tem como objetivo principal compreender se existe alguma associação entre a microflora de doentes portadores de próteses totais acrílicas mucosuportadas e portadores de próteses totais acrílicas implantosuportadas. Procurou-se então avaliar a prevalência, grau de colonização e distribuição das espécies bacterianas presentes em duas localizações distintas (rebordo alveolar e sulco) de próteses totais implantosuportadas e comparar com o rebordo das próteses totais mucosuportadas recorrendo a um estudo prévio.

Materiais e Métodos: Foram observados e avaliados 30 indivíduos portadores de próteses totais implantosuportadas, de ambos os sexos, na Clínica Universitária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Centro Médico Dentário de Mafra e Clínica de Reabilitação Oral Avançada. Todos os participantes foram informados dos propósitos do estudo e após seu consentimento foram efetuados inquéritos, observações clínicas e recolhas recorrendo a zaragatoas e cones estéreis. Os resultados obtidos foram analisados em Excel e SPSS.

Resultados: Das 60 amostras recolhidas (30 do sulco e 30 do rebordo) as principais espécies bacterianas isoladas foram cocos Gram positivos como *Staphylococcus epidermidis*, seguida de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus oralis* e bacilos Gram negativos como *Pseudomonas fluorescens*, Enterobactérias, *Proteus*, *Klebsiella oxytoca* e *Morganella morganii*.

Conclusões: A localização das PTIS (superior/inferior), os fatores de risco e a presença de sinais inflamatórios por si só não estão diretamente relacionados com o crescimento ou tipo de bactérias. O tipo de prótese (PTMS/PTIS) só parece influenciar a presença de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus salivarius* e a presença de bactérias patogénicas aparenta ser possível em implantes saudáveis.

Palavras-chave: Microbiologia oral, bactérias, prótese total implantosuportada, biofilme oral.

ABSTRACT

Objective: This study aims to understand whether any association exists between the microflora of patients with total acrylic denture and acrylic full fixed implant dentures. Then sought to evaluate the prevalence, degree of colonization and distribution of bacterial species present in two different locations (alveolar ridge and furrow) of implant fixed dentures and compare with the edge of total mucosuportadas prostheses.

Materials and Methods: We observed and evaluated 30 individuals with total implant supported dentures, of both sexes, in the University Clinic of the Institute of Health Sciences Egas Moniz, Dental Medical Center and Clinic Mafra Advanced Oral Rehabilitation. All participants were informed of the purposes of the study and after their agreement clinical observations and collections were made using sterile swabs and cones. The results were analyzed in Excel and SPSS.

Results: All the 60 samples collected (30 of the groove and 30 of border) were identified Gram positive cocci as *Staphylococcus epidermidis*, followed by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus oralis* as well as Gram negative bacilis as *Pseudomonas fluorescens*, Enterobacterias, *Proteus*, *Morganella morganii*, and *Klebsiella oxytoca*.

Conclusions: The location of PTIS (upper / lower), the risk factors and the presence of inflammatory signals, by themselves are not directly related to the growth or type of bacteria. The type of prosthesis (PTMS / PTIS) only seems to influence the presence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus salivarius*, and the presence of pathogenic bacteria appear to be possible in healthy implants.

Keywords: Oral Microbiology, bacteria, implant fixed full denture, oral biofilm.

RESUMEN

Objetivo: Este estudio tiene como objetivo evaluar si existe alguna asociación entre la microflora de pacientes con prótesis mucosoportadas de acrílico y pacientes portadores de prótesis completas implantoportadas. Se evaluó la prevalencia, el grado de colonización y la distribución de especies bacterianas presentes en dos localizaciones diferentes (cresta alveolar y surcos) de prótesis completas implantoportadas y se comparó con el borde de prótesis completas mucosoportadas.

Materiales y Métodos: Se observaron y evaluaron 30 individuos de ambos sexos con prótesis completas implantoportadas en la Clínica de la Universidad del Instituto de Ciencias de la Salud Egas Moniz, Centro Médico Dental y Clínica de Rehabilitación Oral Avanzada Mafra. Todos los pacientes fueron debidamente informados de los objetivos de dicho estudio y después de obtener su consentimiento, las observaciones clínicas y las colecciones de cultivo se realizaron utilizando estériles conos. Los resultados se analizaron con el programa Excel y el paquete estadístico SPSS.

Resultados: De las 60 muestras obtenidas (30 de la cresta y 30 surco) se identificaron cocos Gram positivos como *Staphylococcus epidermidis*, seguido de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus oralis*, así como Gram negativo bacilos *Pseudomonas fluorescens*, Enterobacterias, *Proteus*, *Morganella morganii*, y *Klebsiella oxytoca*.

Conclusiones: La ubicación del PTIS (superior / inferior), los factores de riesgo y la presencia de señales inflamatorias por sí mismos no están directamente relacionados con el crecimiento o el tipo de bacterias. Solamente la modalidad de prótesis (PTMS / PTIS) solamente parece influir en la presencia de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus salivarius*. La existencia de bacterias potencialmente patógenas parece ser posible en implantes sanos.

Palabras clave: Microbiología Oral, bacterias, prótesis completas, biofilm oral.

ÍNDICE

I – INTRODUÇÃO	19
1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1.1. Considerações Protéticas	20
1.1.1. Edentulismo.....	20
1.1.2. Prótese Total Mucosuportada.....	21
1.1.3. Prótese Total Implantosuportada.....	23
1.1.3.1. Contra indicações e vantagens/desvantagens	24
1.1.4. Implantes	25
1.1.4.1. Osteointegração	26
1.2. Ecologia Microbiana	27
1.2.1. Classificação	27
1.2.2. Estrutura das bactérias.....	28
1.2.3. Forma e morfologia de agrupamento	28
1.2.4. Atividade biológica bacteriana.....	29
1.2.5. Virulência	30
1.3. Ecologia microbiana Oral	30
1.3.1. Biofilme.....	31
1.3.1.1. Fatores que influenciam a colonização.....	33
1.3.1.2. Prevenção da Formação do Biofilme ao redor do Implante	33
1.4. Patologias	33
1.4.1. Doença Perimplantar	33
1.4.1.1. Perimplantite.....	34
1.4.1.1.1. Periodontite VS Perimplantite: fatores de risco	36
1.4.1.2. Mucosite Perimplantar.....	36
1.5. Higiene oral em Portadores de Prótese Total	37

2 – OBJETIVOS	41
II. MATERIAIS E MÉTODOS	43
1. Questões Éticas.....	43
2. Amostra Estudada.....	43
3. Materiais necessários.....	44
4. Metodologia.....	45
4.1. Protocolo Observação Clínica.....	46
4.2. Protocolo de Recolha de Amostras	47
4.2.1. Para exame microscópico direto.....	47
4.2.2. Para identificação da flora microbiana	47
4.3. Protocolo de Processamento Laboratorial.....	48
4.3.1. Para exame microscópio direto.....	48
4.3.2. Para identificação da flora microbiana	48
4.3.2.1. Identificação de bactérias anaeróbias do sulco e rebordo.....	49
4.3.2.2. Identificação de bactérias aeróbias no sulco e rebordo	51
III. RESULTADOS.....	55
1. Identificação e Caracterização dos Grupos	55
1.1. Amostra do Estudo	55
1.1.1. Identificação	55
1.1.2. Caracterização	55
1.2. Grupo de Trabalho – Prótese Total Implantosuportada	56
1.2.1. Localização da prótese.....	57
1.2.2. Tempo de uso	57
1.2.3. Higiene oral	57
1.2.4. Número de implantes em carga	58
1.2.5. Presença de sinais inflamatórios.....	59
1.2.6. Existência de fatores de risco	59

2. Identificação e Caracterização da Microflora.....	60
2.1 Colheita da PTIS	60
2.1.1. Identificação dos morfotipos bacterianos	60
2.1.2. Identificação dos microrganismos isolados.....	61
2.1.3. Identificação das espécies de microrganismos do sulco.....	62
2.1.4. Caracterização da microflora perimplantar quanto à patogenicidade	64
2.1.5. Colonização bacteriana em função da idade.....	65
2.1.5. Relação entre o número de implantes e a presença de bactérias cocos do sulco.....	65
2.1.6. Relação entre a higiene oral e a presença de bactérias cocos no sulco	66
2.1.7. Relação entre a data de colocação e a presença de bactérias patogénicas no rebordo.....	66
2.1.8. Relação entre a microflora sulco e a microflora do rebordo	67
2.1.9. Relação entre as bactérias do sulco e rebordo de PTIS e as características da amostra do estudo	67
2.2. Estudo comparativo da colheita do rebordo de próteses totais mucosuportadas (Carvalho et al., 2010) e implantosuportadas.....	68
2.2.1. Identificação dos morfotipos bacterianos	68
2.2.2. Identificação dos microrganismos isolados.....	68
2.2.3. Identificação das espécies de microrganismos	69
2.2.4. Caracterização da microflora quanto à patogenicidade	71
IV. DISCUSSÃO	73
V. CONCLUSÕES	83
1. Linhas para Investigações Futuras	85
2. Limitações do Estudo	85
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
VII- ANEXOS	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação das próteses totais removíveis(Volpato et al., 2012)	22
Figura 2 – Diagrama Jacobson e Krol modificado por Turano & Turano (2004).....	23
Figura 3 – Vantagens e desvantagens (Misch, 2007; Volpato et al., 2012)	25
Figura 4 – Diferenças entre a mucosa de dente e implantes (Aloise, 2009).....	26
Figura 5 – Fatores que afetam a osteointegração (Gaviria et al., 2014)	27
Figura 6 – Formas bacterianas mais comuns e tipos de agrupamento (Taveira et al., 2008).....	28
Figura 7 – Crescimento bacteriano baseado em (Lanmont et al., 2006)	29
Figura 8 – Ciclo da Formação da Placa Dentária baseado em (Sala & García, 2013) ...	32
Figura 9 – Tecidos Perimplantares (Lindhe, Lang, & Karring, 2008)	34
Figura 10 – Ilustração da higiene de PTIS fixas (Murgueitio et al., 2014)	39
Figura 11 – Fotografia intra oral (cedida pelo Mestre José Reis) da recolha com zaragatoa estéril	47
Figura 12 – Fotografia intra oral (cedida pelo Mestre José Reis) aquando da recolha com cones de papel.....	48
Figura 13 – Esquema Representativo das Diluições Necessárias.....	49
Figura 14 – Representação da Inoculação de Placas da Amostra.....	50
Figura 15 – Crescimento de Diversas Bactérias em Meio COS.....	50
Figura 16 – Isolamento de uma Bactéria <i>Streptococcus salivarius</i> com Api20Strep	51
Figura 17 – Isolamento com Api20A de uma bactéria a tempo zero	51
Figura 18 – Representação da Inoculação das Placas para Bactérias Aeróbias	51
Figura 19 – Observação Macroscópica do Meio de Cultura DRIG	52
Figura 20 – Teste Oxidase Positiva	52
Figura 21 – Isolamento de uma bactéria aeróbia oxidase negativa <i>Klebsiella oxytoca</i> com Api20E.....	52
Figura 22 – Isolamento de uma Bactéria Aeróbia Oxidase Positiva <i>Pseudomonas</i> sp.com Api20NE.....	52
Figura 23 – Observação Macroscópica do Meio de Cultura MSA2.....	53
Figura 24 – Teste Catalase Positiva.....	53
Figura 25 – Relações estatisticamente relevantes nas PTIS	66
Figura 26 – Relação entre a microflora do rebordo e sulco de PTIS	67

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Correlação entre os Fatores de Risco na Periodontite e Peri implantite.....	36
Tabela 2 – Bactérias da família <i>Streptococcaceae</i> presentes no sulco de PTIS.....	63
Tabela 3 – Bactérias da família <i>Actinomycetaceae</i> e Outras Presentes no Sulco de PTIS	64
Tabela 4 – Microrganismos Patogénicos das PTIS	65
Tabela 5 – Microrganismos Patogénicos do Rebordo	72

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição da Amostra Estudada nos Dois Grupos.....	55
Gráfico 2- Distribuição do grupo de comparação segundo o género	55
Gráfico 3- Distribuição do grupo de estudo segundo o género	56
Gráfico 4 - Distribuição do grupo de estudo segundo a Idade	56
Gráfico 5 – Localização da prótese	57
Gráfico 6 - Distribuição Segundo a Data de Colocação da Prótese	57
Gráfico 7 - Frequência de Escovagem.....	58
Gráfico 8 - Distribuição dos pacientes segundo os métodos H.O.	58
Gráfico 9 – Número de implantes em carga	59
Gráfico 10 – Percentagem dos fatores de risco	59
Gráfico 11 – Distribuição da Morfologia nas PTIS.....	60
Gráfico 12 – Distribuição do Gram das bactérias nas PTIS	60
Gráfico 13 – Percentagem das bactérias aeróbias e anaeróbias nas PTIS	61
Gráfico 14 – Identificação dos Microrganismos Bacterianos existentes no Sulco.....	61
Gráfico 15 – Percentagem de Bactérias <i>Staphylococcaceae</i> no sulco.....	62
Gráfico 16 – Numero de Indivíduos com Bactérias no Sulco da família <i>Enterobacteriaceae</i>	63
Gráfico 17 – Morfologia e Distribuição dos Microrganismos Bacterianos do Rebordo	68
Gráfico 18 – Identificação dos Microrganismos Bacterianos existentes no Rebordo	69
Gráfico 19 – Identificação da família <i>Staphylococcaceae</i> no Rebordo.....	70
Gráfico 20 – Identificação da família <i>Pseudomonadaceae</i> no Rebordo	70
Gráfico 21 – Identificação da família <i>Streptococcaceae</i> no Rebordo	71

LISTA DE ABREVIATURAS

API – Automatic Profile Index

BOP- Hemorragia a sondagem

CHAP – Meio Chapman

CNA – Meio Columbia ANC + 5% sangue de carneiro

COS – Meio Columbia Agar com 5% Sangue

DRIG – Meio Drigalsky

EP – Estomatite Protética

+ – Positivo

- – Negativo

H.O. – Higiene Oral

ISCSEM – Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz

MSA2 – Meio Mitis Salivarius Agar / Manitol Salt Agar / Chapman

PT – Prótese Total

PTIS – Prótese Total Implanto Suportada

PTMS – Prótese Total Muco Suportada

SCS – Meio Schaedler agar + 5% sangue

sp. – Espécie

TSA – Meio Tripcase Soja Agar

UFC – Unidades Formadoras de Colónias

VMGA III – Meio de transporte viável para anaeróbios

I – INTRODUÇÃO

A cavidade oral, ambiente dinâmico e hostil e com uma temperatura de 37°C, permite um desenvolvimento de uma colonização bacteriana com as mais complexas misturas de microrganismos conhecidas. Mais de 100 espécies podem ser encontradas numa mesma localização podendo existir mais de 700 bactérias na cavidade oral (Lanmont, Burne, Lantz, & LeBlanc, 2006). A presença de nutrientes associados à capacidade de adaptação das bactérias induz o seu crescimento sobre superfícies naturais (dente, mucosa, gengiva) ou sobre materiais artificiais (próteses, implantes, coroas), na forma de biofilme. Este biofilme pode sofrer alterações na sua composição devido a modificações no ambiente e assim permitir que se gerem condições propícias ao crescimento de colónias de bactérias virulentas, causando doença no hospedeiro (Yasui, Ryu, Sakurai, & Ishihara, 2012).

A constante progressão apical deste biofilme está associada quer a manifestações a nível clínico, quer a nível radiográfico dos tecidos, podendo levar à ocorrência de periodontite (no caso de dentes), periimplantite (no caso de implantes) ambas com perdas ósseas associadas (Dhir, 2013).

Segundo Crespo (2012), Portugal apresenta uma das maiores taxas de edentulismo de toda a Europa e muitos dos fatores de risco são doenças crónicas como a *diabetes mellitus* e as doenças cardiovasculares. Na maioria das vezes, a perda de peças dentárias deve-se à progressão da cárie e de doenças periodontais o que conduz à destruição dos tecidos de suporte (gengivas, osso alveolar e ligamento). Sendo que, em ambos os casos, o fator causal é a placa bacteriana.

Em pacientes desdentados totais a reabilitação é um desafio. Segundo Lambade, Lambade, & Gundawar (2014), os pacientes habitualmente queixam-se mais de problemas de adaptação da prótese total removível inferior, manifestando falta de retenção e estabilidade levando a uma incapacidade de mastigação. Contrariamente, os mesmos autores consideram que a prótese total fixa por implantes, reduz os movimentos da mesma e oferece uma estética melhorada, uma melhor oclusão e uma manutenção da dimensão vertical de oclusão mais correta.

1 – Revisão Bibliográfica

1.1. Considerações Protéticas

A palavra prótese deriva do grego “prothesis” que significa “pro” – diante/em lugar de e “thesis” – colocar este dispositivo. Tem como objetivo recolocar um dente perdido parcial ou totalmente, através de materiais artificiais (Turano & Turano, 2004).

1.1.1. Edentulismo

A ocorrência de uma esperança média de vida mais elevada e de uma baixa taxa de natalidade tem aumentado a percentagem de população idosa o que pode levar ao aumento do número de portadores de próteses dentárias (Yasui et al., 2012). Por outro lado, é consensual que a qualidade da saúde oral tem vindo a melhorar, diminuindo a incidência de perda de peças dentárias.

Segundo Gaviria, Salcido, Guda, & Ong (2014), a perda de dentes está associada a trauma ou doença e a reabilitação oral pode ser fixa total ou parcial (dento-suportada, dento-implanto-suportada e implantosuportada) ou removível parcial ou total (dento-suportada, dento-muco-suportada, muco-dento-suportada, mucosuportada e implantosuportada).

Como consequências do edentulismo ocorrem alterações anatómicas (ósseas, dos tecidos moles e estéticas) e psicológicas.

a) Alterações anatómicas ósseas

Os dentes presentes na cavidade oral, entre outras funções, fazem a transmissão de forças de tração e compressão ao osso sobre a forma de estímulos, de modo a manter a sua densidade e volume. Quando estes são extraídos, a falta de estímulos ao osso residual causa “diminuição das trabéculas e da densidade óssea, com perda de largura e altura, o que diminui em cerca de 25% a largura do osso e em aproximadamente 4 mm a altura no primeiro ano após extração para prótese total” (Misch, 2007, cap. 1). Deste modo, com o passar do tempo torna-se difícil a adaptação e a estabilidade da prótese, uma vez que o rebordo se torna tendencialmente plano.

b) Alterações anatómicas dos tecidos moles

Acompanhando a perda óssea, o nível de gengiva inserida diminui gradualmente, as inserções musculares tornam-se altas e os tecidos geralmente ganham mobilidade o que contribui para próteses desadaptadas, desconfortáveis e com alguns pontos dolorosos. Devido à perda dos dentes, também a língua se adapta aumentando de volume vindo a ocupar o espaço cedido pelas perdas dentárias e ósseas e, no caso específico de pacientes com mais idade, pode mesmo ocorrer perda do controle neuromuscular tornando-se difícil manter a prótese estável em boca (Misch, 2007). Nestes casos, a capacidade de mastigação sofre uma degradação levando a alterações da dieta que podem implicar défices nutricionais e, conseqüentemente, um risco acrescido de novas doenças (Crespo, 2012).

c) Alterações anatómicas estéticas

Como conseqüências estéticas da perda de peças dentárias é de evidenciar a diminuição da altura facial, a perda do ângulo labiomentoniano e o aprofundamento das linhas verticais na zona em causa, assim como, inversão da linha do sorriso (Misch, 2007).

d) Alterações psicológicas

Decorrente parcial ou totalmente das alterações anatómicas atrás referidas, podem ocorrer isolamento devido à baixa auto estima, à vergonha pela sua imagem e ao desconforto em geral (Misch, 2007).

1.1.2. Prótese Total Mucosuportada

Uma prótese total mucosuportada (PTMS) é um mecanismo que repõe todos os dentes em boca e é composta por duas porções: a base, acrílica, com abas labiais, bucais, linguais (nas inferiores), distolinguais (nas inferiores) e palato (nas superiores); e os dentes artificiais em resina acrílica ou porcelana. Esta tem como objetivos (Volpato, Garbelotto, Zani, & Vasconcellos, 2012):

- Restabelecer a função mastigatória, tornando possível a trituração dos alimentos;
- Restabelecer a função fonética;
- Restabelecer a deglutição, formando uma barreira física;
- Restabelecer a estética e a harmonia facial;

Em termos de classificação (Figura 1) as PTMS podem ser superiores ou inferiores removíveis; podem ser de colocação imediata (após extrações dentárias) ou mediata (a prótese é feita após 90 dias da perda dos dentes após cicatrização gengival e reparo ósseo); podem conter uma base rígida (resina acrílica convencional) ou macia (a camada interna em contacto com a mucosa tem consistência borrachoide) e a cor da resina acrílica da base pode ser simples (toda em resina rosa) com palato/lingual incolor (facilita a identificação de zonas de compressão) ou com a elaboração de gengiva caracterizada (porção vestibular com diversas tonalidades rosa) (Volpato et al., 2012).

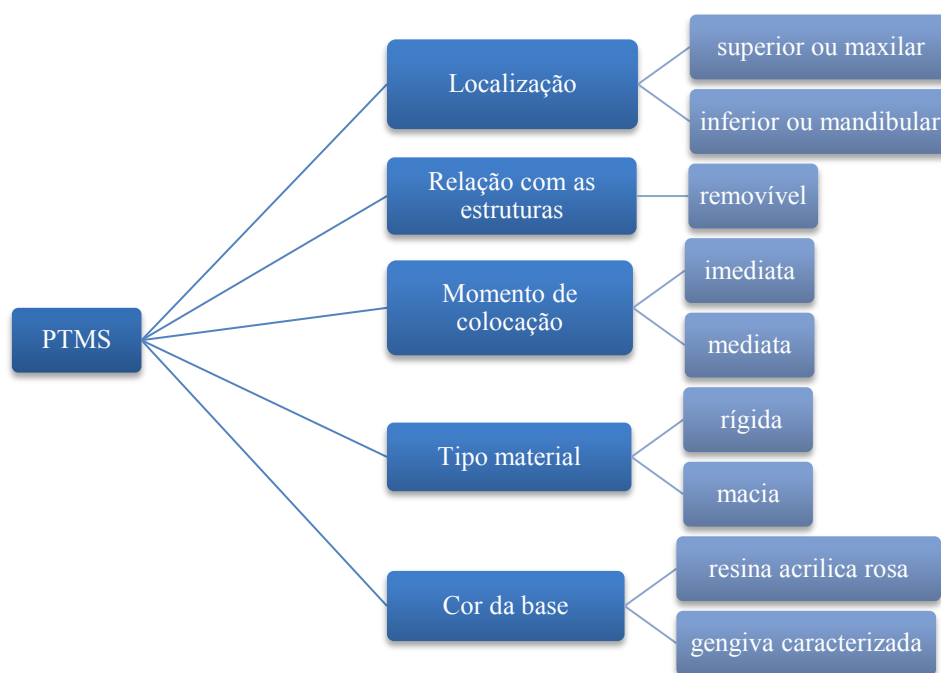


Figura 1 – Classificação das próteses totais removíveis(Volpato et al., 2012)

Contrariamente às próteses acrílicas parciais, a prótese total tem como área basal apenas osso e mucosa, não usando os dentes como meio de retenção no entanto, em ambas, existe a transmissão de estímulos ao osso. Consequentemente verifica-se uma aceleração da perda óssea em virtude das cargas mastigatórias serem transmitidas apenas a uma superfície em vez de ao osso no seu todo, ocorrendo um suprimento sanguíneo e perda de volume ósseo (Misch, 2007, cap. 1).

Assim, o sucesso no tratamento depende da estabilidade, suporte, retenção e estética da prótese o que leva a uma longevidade do tratamento e conforto tanto psicológico como fisiológico para o paciente (Figura 2) (Turano & Turano, 2004).

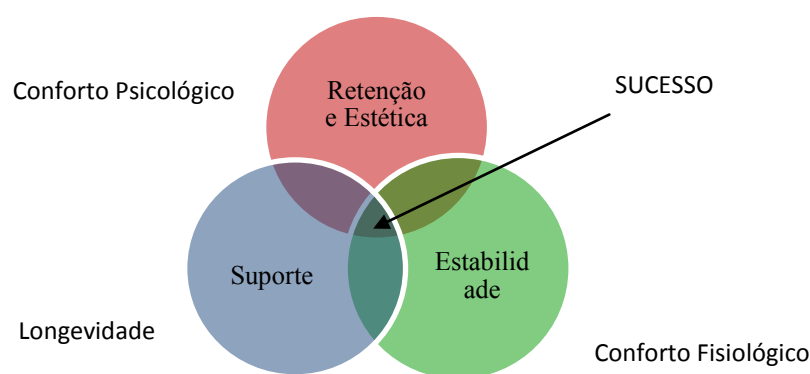


Figura 2 – Diagrama Jacobson e Krol modificado por Turano & Turano (2004)

1.1.3. Prótese Total Implantossuportada

Durante uma revisão bibliográfica (Kwon, Bain, & Levin, 2014) chegou-se à conclusão que as próteses híbridas totais fixas por implantes tinham taxas de sobrevivência bastante elevadas a curto prazo (5-10 anos). No entanto, devido à literatura disponível ser limitada, as taxas de sobrevivência a longo prazo (mais de 10 anos) não puderam ser obtidas. Bozini, Petridis, Tzanas, & Garefis (2011) efetuaram um estudo também sobre próteses totais fixas por implantes com pelo menos 5 anos e concluíram que as complicações mais frequentes em próteses metalo acrílicas eram fraturas ou desgaste do material, mas que eram necessários mais estudos principalmente em relação às próteses metalo cerâmicas. Num estudo longitudinal de 5 anos com 45 pacientes desdentados totais portadores de PTIS com 4 a 6 implantes a taxa de sucesso do implante foi de 100% e das próteses de 95,5% (Gallucci, Doughtie, Hwang, Fiorellini, & Weber, 2009).

A prótese total implantossuportada (PTIS) pode ser de dois tipos: removível (sobredentadura) ou fixa (aparafusada ou cimentada) e requer, para além do planeamento da prótese, o planeamento da cirurgia de implantes que solicita muitas vezes encerramentos de diagnóstico, guias protéticas, análise do sorriso e exames complementares de diagnóstico (Volpato C., *et al*, parte 2, cap3, 2012).

De um modo geral, as PTIS são aparafusadas a 4 a 5 implantes posicionados entre os buracos mentonianos na mandíbula, ou a 6 a 8 elementos na maxila (Volpato C., *et al*, parte 2, cap3, 2012) favorecendo a ancoragem de próteses, com ou sem recurso a enxertos ósseos de modo a aumentar a retenção e estabilidade da prótese (Soares, Félix, & Nascimento, 2009). Segundo Heydecke et al. (2012), não há evidência

científica suficiente para saber qual o número ideal de implantes, mas o mais comum é serem colocados entre 4-6.

O conceito “all-on-4” tem-se mostrado uma solução viável para o tratamento de pacientes desdentados totais e consiste na colocação de uma prótese total assente em 4 implantes que traz bastante satisfação ao paciente, tem um tempo de sobrevivência alto, mas que apresenta um fator contra, que é o facto de ter uma higiene difícil (Abi Nader et al., 2014). Segundo Lambade et al. (2014), existem duas abordagens distintas para a sua fixação: ou a prótese fica retida através de uma barra que imobiliza os implantes ou os implantes não estão interligados, recorrendo-se a um “abutment” que permite a retenção da prótese.

A manutenção de uma PTIS exige bastante tempo e é dispendiosa, pelo que os pacientes devem ser informados no início do tratamento das vantagens e limitações da reabilitação (Mané, 2012).

1.1.3.1. Contra indicações e vantagens/desvantagens

Doentes jovens ainda em crescimento, pacientes com doença periodontal não controlada, inexistência de motivação e patologia peri apical, são contra indicações para a colocação de implantes ósseos enquanto doentes diabéticos controlados, doenças cardiovasculares e osteoporose não apresentam risco de insucesso de implantes; já os pacientes fumadores têm uma taxa de insucesso mais elevada. (Soares, Félix, & Nascimento, 2009).

A escolha de próteses totais implantosuportadas ao invés de mucosuportadas tem vantagens e desvantagens (Figura3) e, para um correto plano de tratamento, é necessário ponderá-las para cada paciente individualmente.

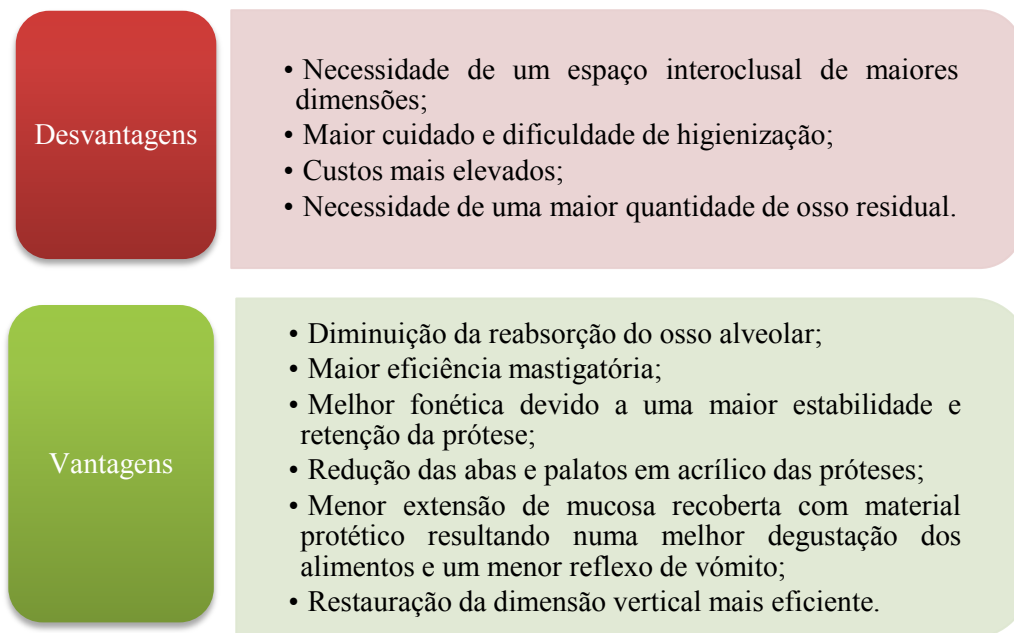


Figura 3 – Vantagens e desvantagens (Misch, 2007; Volpato et al., 2012)

Mertens, Steveling, Stucke, Pretzl, & Meyer-Bäumer (2012) efetuaram um estudo de 11 anos sobre a sobrevivência de 17 PTIS maxilares em que concluíram que esta reabilitação oral é viável até pelo menos 11 anos, pelo que esta característica pode ser encarada como uma vantagem.

1.1.4. Implantes

Os implantes, como atualmente se conhecem, são fruto de um estudo iniciado por Branemark em Gotemburgo no ano de 1969.

Os implantes osteointegrados são metálicos e maioritariamente compostos por titânio. São colocados cirurgicamente numa janela de osso pré existente ou feita na altura para substituir um ou mais dentes perdidos. Assim, a restauração protética pode posteriormente ser encaixada na cabeça do implante (Belibasakis, 2014).

Relativamente à mucosa perimplantar (Figura 4), esta não tem fibras de Sharpey inseridas perpendicularmente à superfície do implante, como acontece no cimento do dente natural e as fibras de colagénio do tecido conectivo estão paralelas ao implante, o que leva a uma menor barreira contra as bactérias. Em relação à interface com o osso, os implantes estão diretamente osteointegrados enquanto os dentes estão envolvidos pelo ligamento periodontal e pelas fibras Sharpey, o que leva a uma maior irrigação sanguínea e fornecimento de nutrientes. (Belibasakis, 2014)

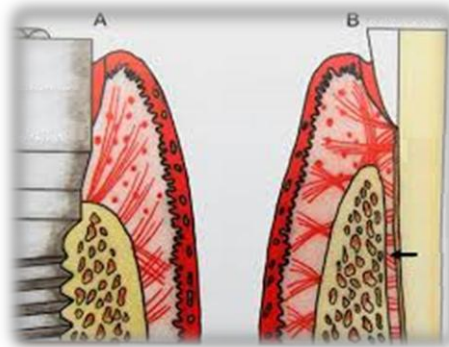


Figura 4 – Diferenças entre a mucosa de dente e implantes (Aloise, 2009)

1.1.4.1. Osteointegração

Por volta de 1930, nas Honduras, estudos arqueológicos encontraram fragmentos de mandíbula com três implantes feitos a partir de conchas em forma de dentes que foram colocados nos alvéolos dos dentes perdidos, dois deles com formação de osso compacto, pertencentes à civilização Maia (“Dental implants: history of dental implants,” n.d.). Mais tarde, em 1954, Per-Ingvar Branemark, iniciou o estudo da regeneração óssea e descobriu que o osso pode crescer em proximidade com o titânio e aderir sem que seja rejeitado – designando este fenómeno de osteointegração (Gaviria et al., 2014).

A osteointegração pode ser definida como uma ligação estrutural e funcional íntima entre o osso vivo e a superfície de um implante que requer uma fixação biológica e uma contínua aposição de osso e remodelação do mesmo. É um processo complexo e essencial para o sucesso do implante que é influenciado por diversos fatores (Figura 5) como: a biocompatibilidade do material do implante, a superfície do implante macroscópica e microscopicamente, a qualidade do osso (Goiato, Dos Santos, Jr Santiago, Moreno, & Pellizzer, 2014), a técnica cirúrgica usada e a fase de cicatrização (Gaviria et al., 2014; Parithimarkalaignan & Padmanabhan, 2013; Stenlund, Murase, Stålhandske, Lausmaa, & Palmquist, 2014).

A osteointegração ocorre em duas fases: uma primária, mecânica, com aposição de osso compacto e, uma secundária, biológica, com a regeneração e remodelação do osso. Em termos de materiais de implantes, os de maior eleição são em titânio, pela sua elevada biocompatibilidade e melhores propriedades mecânicas como a rugosidade e energia de superfície (Gaviria et al., 2014; Parithimarkalaignan & Padmanabhan, 2013; Villa, Polimeni, & Wikesjö, 2010).

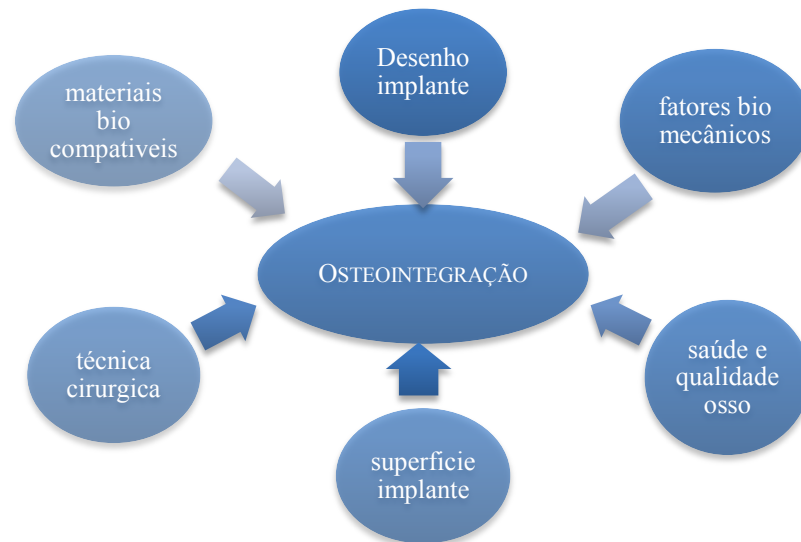


Figura 5 – Fatores que afetam a osteointegração (Gaviria et al., 2014)

1.2. Ecologia Microbiana

De um modo geral, a flora compreende um conjunto de diversos organismos que incluem bactérias, fungos, protozoários e ainda vírus. As bactérias, um dos seres vivos mais antigos do planeta, têm vindo a adaptar-se estrutural, morfológica e metabolicamente ao longo dos anos.

Para entender o como e o porquê dos microrganismos persistirem na cavidade oral e em certas circunstâncias causarem doenças, é necessário entendê-los de um modo geral tanto na sua classificação, como na sua estrutura, forma, função, atividade biológica e virulência.

1.2.1. Classificação

Em termos de classificação, as bactérias podem ser incorporadas em domínio, reino (procarionte- que inclui bactérias, fungos, protozoários e algas), filo, divisão, classes, ordens, famílias, géneros (equivalente ao “apelido”) e espécies (equivalente ao nosso “nome próprio”) e subespécies. (Mahon & Manuselis, 2000) Exemplo: espécie *Streptococcus mutans*, género *Streptococcus*, família *Streptococcaceae*, ordem *Lactobacillales*, classe *Bacilli*, filo *Firmicutes*, reino procarionte.

1.2.2. Estrutura das bactérias

A diferenciação das bactérias segundo o seu tamanho, organização e forma foi realizada pela primeira vez, em 1884, pelo médico dinamarquês Hans Christian Joachim Gram que as identificou microscopicamente através da estrutura da parede celular em dois grandes grupos: Gram positivas (Gram+) e Gram negativas (Gram-) (Pommerville, 2013). Relativamente à constituição, as bactérias Gram + têm apenas uma membrana plasmática ou citoplasmática com uma camada de peptidoglicanos na sua parede celular enquanto as Gram - têm duas membranas separadas pelo periplasma (Lanmont et al., 2006).

1.2.3. Forma e morfologia de agrupamento

Morfologicamente (Figura 6) existem três tipos de bactérias: cocos (forma cilíndrica), bacilos (forma de bastonete) e espiroquetas (forma helicoidal). Os cocos podem encontrar-se individualizados, aos pares (diplococos), em cadeia (estreptococos) ou em cachos (estafilococos). Os bacilos podem variar em tamanho, forma e, nalguns casos, podem mesmo ser curvos (Mahon & Manuselis, 2000; Taveira, Oliveira, Gomes, & Nascimento, 2008).

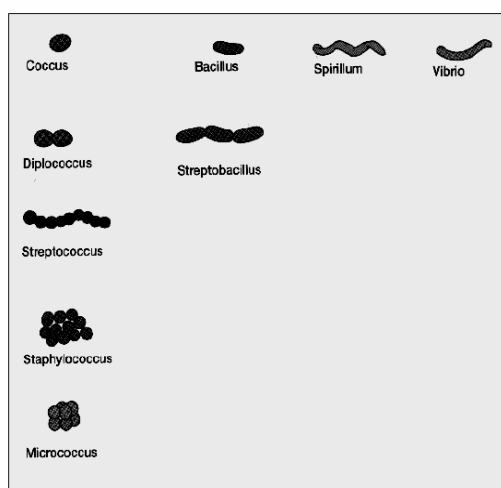


Figura 6 – Formas bacterianas mais comuns e tipos de agrupamento (Taveira et al., 2008)

1.2.4. Atividade biológica bacteriana

Em relação ao crescimento bacteriano (Figura 7) este é exponencial, ou seja, de uma bactéria resultam duas, que depois resultam em 4, 8, 16, 32 e assim sucessivamente (Ferreira, Sousa, & Lima, 2010).

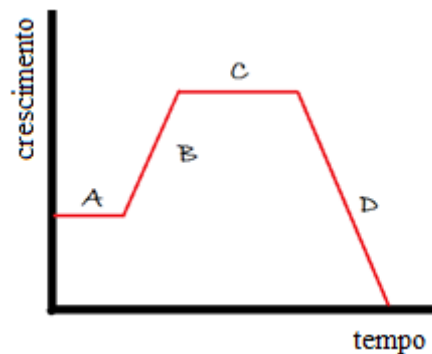


Figura 7 – Crescimento bacteriano baseado em Lanmont et al. (2006)

Quando uma bactéria é inoculada e ainda não se está a dividir, o microrganismo deve alterar o seu metabolismo de modo a conseguir formar os seus constituintes em quantidades suficientes como se estivesse no seu meio habitual (fase adaptação – Figura 7 A). De seguida, os microrganismos começam a crescer e dividir-se de uma forma constante durante a fase exponencial (Figura 7 B) até ocorrerem alterações do meio, como falta de nutrientes ou aumento dos produtos tóxicos entrando então uma fase estacionária (Figura 7 C) que geralmente é mais resistente a antibióticos (Lanmont et al., 2006). Quando há escassez de nutrientes a bactéria morre (Figura 7 D).

Outro fator ambiental importante é o oxigénio, que geralmente se encontra na cavidade oral em quantidades da ordem dos 20%. Certas bactérias requerem oxigénio para respirar, gerar energia e assim poder crescer, sendo designadas bactérias aeróbias estritas (quando existem tensões normais de oxigénio) ou microaerofílicas (quando o crescimento requer oxigénio mas a níveis inferiores ao presente na atmosfera). Muitos dos aeróbios são facultativos, ou seja, apesar de proliferarem melhor na presença de oxigénio, são capazes de crescer na sua ausência, utilizando a fermentação e respiração anaeróbia (Ferreira et al., 2010).

Contrariamente, embora não utilizando o oxigénio nos seus processos de obtenção de energia, as bactérias anaeróbicas podem ser insensíveis à sua presença (anaeróbios aerotolerantes) ou serem sensíveis de tal modo que, o oxigénio impede o seu crescimento levando a morte celular (anaeróbios estritos) (Ferreira et al., 2010).

Muitos microrganismos associados a periodontite como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* e certas espiroquetas, são bactérias anaeróbias estritas presentes na placa bacteriana a um nível subgingival, pois encontram-se protegidas dos metabolitos do oxigénio por outras bactérias consumidoras de oxigénio (Lanmont et al., 2006).

1.2.5. Virulência

O termo virulência deriva de *vírus*, que em latim significa veneno e tem um significado diferente de patogenicidade. Esta é considerada a capacidade de causar doença enquanto a virulência se caracteriza como magnitude dessa mesma patogenicidade. Ou seja, uma bactéria é mais virulenta se conseguir proliferar numa maior extensão e causar uma maior infeção ao hospedeiro, ou seja, será mais patogénica (Ferreira et al., 2010).

A virulência depende de diversos fatores que são produtos microbianos que contribuem para a virulência e patogenicidade, entre os quais (Mahon & Manuselis, 2000; Willey, Sherwood, & Woolverton, 2011): fatores do agente infeccioso como adesão (através de adesinas), proliferação, grau de destruição (através de exotoxinas ou endotoxinas ou ainda processos inflamatórios), invasão (penetração e crescimento nos tecidos) e disseminação (capacidade de se espalhar para outros tecidos).

A virulência depende também de fatores do hospedeiro como a existência de barreira física, mecanismos de limpeza (como a saliva) e agentes antimicrobianos (lisozima, anticorpos IgA, beta lisina). (Mahon & Manuselis, 2000)

1.3. Ecologia microbiana Oral

Desde o nascimento, a cavidade oral possui uma quantidade significativa de bactérias e estas podem colonizar a mucosa oral, língua, peças dentárias, sulco gengival, próteses, aparelhos ortodônticos e implantes. A remoção de muitos destes microrganismos é efetuada pela saliva e pelo fluido crevicular que também ajudam na defesa do hospedeiro (Soares et al., 2009). Com o passar do tempo a microflora tende a alterar-se não só por hábitos como o tabagismo ou consumo excessivo de gorduras mas também na puberdade e gravidez com o aumento hormonal há tendência para um maior número de bactérias Gram negativas anaeróbias (Lanmont et al., cap 1, 5 2006).

Segundo Karousis, Salvi, & Heitz-mayfield (2003), comparando a microflora em redor dos implantes em pacientes desdentados total ou parcialmente, encontram-se altas percentagens de bactérias de pigmento preto, cocos e bactérias móveis em desdentados totais e alta frequência de *P. gingivalis* e *P. intermedia* em desdentados parciais. Uma revisão bibliográfica mais recente (de Waal, van Winkelhoff, Meijer, Raghoobar, & Winkel, 2013) afirma que geralmente se acumula mais placa nos implantes de próteses parciais implantossuportadas que totais mas que estas, com ou sem história prévia de periodontite, apresentam maior prevalência de perimplantite.

Para Belibasakis (2014) e De Boever & De Boever (2006) a colonização bacteriana em implantes saudáveis de pacientes desdentados totais, é semelhante à encontrada nas bolsas periodontais de dentes saudáveis, enquanto em doentes parcialmente desdentados a colonização do implante é semelhante à de dentes adjacentes, tecidos moles, língua e saliva.

1.3.1. Biofilme

Biofilme é uma massa densa de bactérias que está firmemente aderida entre si e ao dente/ implante /prótese (Lanmont et al., 2006; Pereira et al., 2013) embebidos e entrecruzados e rodeados de um material extra celular abiótico de uma origem tripla: bactérias, saliva e dieta. (Sala & García, 2013). Este é composto por uma junção de múltiplas comunidades aderidas que se multiplicam constantemente e que podem ser facilmente removidas com a escovagem e passagem do fio dentário diariamente. Esta interação entre diferentes espécies de bactérias que vivem no mesmo local induz alterações metabólicas, físicas e genéticas.

O biofilme formado na superfície dentária é designado placa dentária e é um dos biofilmes mais estudados devido à facilidade de acesso para recolha de amostras e o crescimento posterior que permite o seu estudo (Dhir, 2013). A placa dentária pode ser supra gengival ou coronal (localizada em superfícies lisas – placa marginal, proximal e placa das fossas e fissuras), placa infra- gengival (no sulco gengival) e placa no cimento radicular e é considerado um depósito de cor branco-amarelada e ao ser aderente, não é eliminada pela ação da mastigação ou pressão. Esta é a grande diferença entre matéria alba, que é constituída por restos alimentares, células descamadas, leucócitos e bactérias não aderidas que podem ser arrastadas por um jacto de água.

Minutos após a higienização e durante as horas existentes até à nova limpeza, uma repetida sucessão de espécies participa no desenvolvimento de comunidades (placa adquirida) cada vez mais complexas. Algumas dessas poderão vir a ser patogénicas (Kolenbrander, cap 1, 2011). Os colonizadores iniciais são os *Streptococcus* (*Streptococcus sanguis* (Dhir, 2013), *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*) (Kolenbrander, 2011; Sala & García, 2013) e *Actinomyces* sp. *Neisseria* sp. *Haemophilus* sp, *Rothia dentocariosa*, *Corynebacterium matruchotii*.(Sala & García, 2013) que permitem que as bactérias sem capacidades de se ligar aos dentes se possam ligar aos mesmos e assim permitir a colonização secundária por parte de *Fusobacterium nucleatum*, *Prophyromonas* sp. *Prevotella* sp. A prosperação das bactérias da placa é permitida devido aos nutrientes da saliva, fluido crevicular e dos resíduos de alimentos. (Dhir, 2013).

A película adquirida é uma placa electronegativa amorfa de espessura fina que se forma na superfície dentária logo apos a higiene através da saliva e depósitos de proteínas e glucoproteínas. Quase em simultâneo ocorre o depósito de microrganismos sobre a placa.

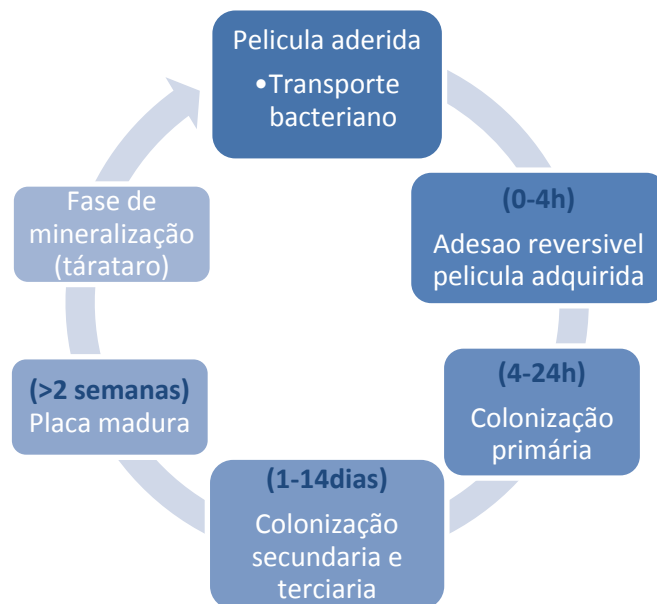


Figura 8 – Ciclo da Formação da Placa Dentária baseado em (Sala & García, 2013)

Nas primeiras 4 horas após a formação da placa adquirida (Figura 8) esta adere reversivelmente ao dente através de forças de Van der Waals. A partir das 4h e até as 24 a película adere irreversivelmente, ainda fina e com predomínio de bactérias aeróbias. A colonização secundária pode demorar entre 1 e 14 dias e com a junção de novos microrganismos ocorre um aumento da espessura da placa. A partir das duas semanas,

ocorrem alterações de pH, oxigênio e aporte de nutrientes tornando a placa mais heterogênea obrigando aos microrganismos a adaptarem-se. Esta placa pode ainda mineralizar formando o tártaro (Sala & García, 2013).

Este ciclo (Figura 8) é sempre constante e, sobre o tártaro constituído, pode desenvolver-se uma nova película adquirida e reiniciar-se todo o processo, que determinará um incremento na espessura do tártaro, a dificuldade da sua remoção, o aspeto inestético e, o favorecimento de zonas maior retenção microbiana (Sala & García, 2013).

1.3.1.1. Fatores que influenciam a colonização

Em Carvalho, Félix, & Nascimento (2010) e Cavaleiro, Proença, Félix, & Salema-Oom (2013) a formação do biofilme por si só não é suficiente para o crescimento microbiano e para o risco de infeção, sendo necessários alguns fatores do hospedeiro, tais como, alterações da constituição da saliva, estado imunológico e fisiológico, dieta rica em glúcidos, doenças sistémicas associadas, idade avançada, xerostomia, uso de próteses dentárias, terapêutica, e lesões nas mucosas. Abi Nader et al., 2014 vieram reforçar a ideia já antiga em relação à correlação da distância entre implantes e acumulação de placa, concluindo que quanto maior a distância entre implantes, menor a acumulação de placa.

1.3.1.2. Prevenção da Formação do Biofilme ao redor do Implante

“Uma sistemática monitorização dos parâmetros clínicos e radiográficos, como por exemplo, presença de placa e cálculo, hemorragia à sondagem, formação de bolsas, presença/ausência de supuração e avaliação radiográfica é importante para assegurar a saúde peri implantar” (Dhir, 2013).

1.4. Patologias

1.4.1. Doença Perimplantar

O hospedeiro pode responder ao biofilme na forma de diversas reações inflamatórias, que podem numa fase inicial apenas afetar o tecido mole mas, mais tarde, progredir de modo a afetar o osso de suporte. Dentro dessas reações inflamatórias do

tecido em redor do implante podemos distinguir duas: mucosite peri-implantar e perimplantite (Popat, V. Bhavsar, & Popat, 2014) (Figura 9).

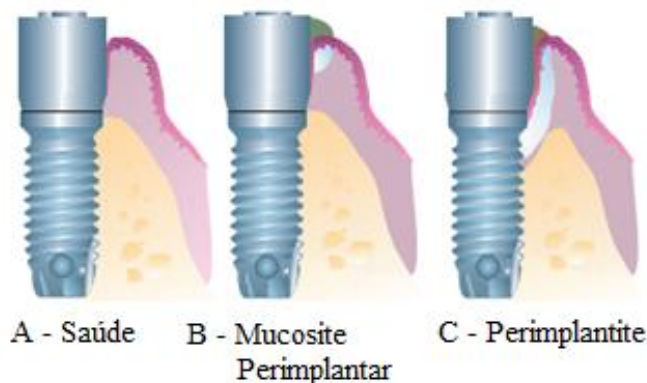


Figura 9 – Tecidos Perimplantares (Lindhe, Lang, & Karring, 2008)

1.4.1.1. Perimplantite

“Perimplantite corresponde, basicamente à periodontite do adulto” (Algraft, Borumandi, & Cascarini, 2012) e pode ter 3 graus desde suave, moderado e severo (Armas, Culshaw, & Savarrio, 2013). Esta é definida como uma reação inflamatória resultante da formação de biofilme em redor do implante associada a mobilidade (Popat et al., 2014), perda de osso que suporta o implante osteointegrado, ao aumento do tamanho da bolsa superior a 4 mm, à supuração e à hemorragia à sondagem. Esta designação surgiu há cerca de 2 décadas de modo a caracterizar a condição patológica localizada em redor do implante. Como fatores de risco identificam-se a falta de higiene, o tabaco, as condições sistémicas (ex. diabetes *melittius*), a susceptibilidade genética, o consumo de álcool e historial anterior de periodontite (Belibasakis, 2014; Charalampakis, 2013; Heitz-mayfield, Mombelli, & Dent, 2014; Lindhe et al., 2008, pp. 529–535; Andrea Mombelli & Décaillet, 2011).

Comumente os microrganismos causadores de periodontite e perimplantite são semelhantes: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus microbes*, *Fusobacterium nucleatum* (Grover & Shukla, 2012; Andrea Mombelli & Décaillet, 2011; Shahabouee et al., 2012) *Tannerella forsyntia* e *Treponema denticola* (Dhir, 2013). Ata-Ali et al. (2011) afirma também que a microflora entre as duas patologias é semelhante mas que as espécies encontradas são: *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter rectus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Embora num estudo

mais recente de Belibasakis (2014) se afirma que *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloace*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Peptostreptococcus micro*, *Pseudomonas* sp e *Candida* sp. apenas são comuns na perimplantite.

Em termos biológicos a alteração de saúde para patologia é caracterizada pela alteração da microflora Gram + imóvel, aeróbia e anaeróbia facultativa para Gram – móvel e anaeróbia. (Belibasakis, 2014; Dhir, 2013; Lindhe et al., 2008; Pye, Lockhart, Dawson, Murray, & Smith, 2009)

Num estudo comparativo (Karousis et al., 2003) conseguiu comprovar que a perimplantite tinha uma incidência de 28,6% em pacientes com periodontite em comparação com pacientes sem periodontite prévia, comprovando assim a suscetibilidade e interligação entre as duas.

Em comparação aos tecidos periodontais, os tecidos perimplantares têm uma capacidade limitada de resolver a progressiva acumulação de placa e se a perimplantite não for diagnosticada e controlada de forma eficaz esta pode avançar e resultar numa perda total da integração do implante levando à sua perda. (Ricomini Filho, Fernandes, Straioto, da Silva, & Del Bel Cury, 2010)

Segundo o autor Algraft et al. (2012) o tratamento da perimplantite é desafiador, tanto que uma limpeza mecânica não cirúrgica do implante com ou sem uso de um agente antibacteriano é ineficaz sendo o tratamento escolhido na maioria das vezes o desbridamento e curetagem da lesão e aplicação sistêmica de antibióticos. Contrariamente, Dhir (2013) afirma que a descontaminação do implante com terapias não cirúrgicas tem-se mostrado eficiente; uso de medicamentos locais como tetraciclina tem mostrado resultados promissores na redução dos níveis de *P.gingivalis*, *T.forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*; e o recurso a terapia fotodinâmica com baixos níveis de laser.

1.4.1.1.1. Periodontite VS Perimplantite: fatores de risco

A análise dos fatores de risco entre estas duas doenças mostra algumas divergências (Tabela 1) sendo que a baixa higiene oral, a existência de microrganismos, o consumo de álcool e tabaco, diabetes e, gengivites/mucosites são fatores de risco comuns.

Fatores de risco	Periodontite	Peri implantite
<i>História de periodontite</i>	+	+
<i>Baixa Higiene Oral</i>	+	+
<i>Microrganismos</i>	+	+
<i>Gengivite/ Mucosite</i>	+	n.i.
<i>Tabaco</i>	+	+
<i>Diabetes Melittus</i>	+	+
<i>Propensão genética</i>	(+)	(+)
<i>Consumo álcool</i>	(+)	(+)
<i>Ausência de gengiva queratinizada</i>	(+)	(+)
<i>Posição na arcada</i>	-	+
<i>Formato do implante</i>	-	(+)
<i>Superfície do implante</i>	-	(+)
<i>Cimento residual</i>	-	+

- Sem correlação; (+) Baixa correlação; + Alta correlação; n.i. Não investigado

Tabela 1 – Correlação entre os Fatores de Risco na Periodontite e Peri implantite (Charalampakis, 2013)

1.4.1.2. Mucosite Perimplantar

“Mucosite perimplantar corresponde ao termo básico gengivite” (Algraft et al., 2012). Esta é classificada como uma reação inflamatória reversível da mucosa em redor do implante osteointegrado que deve ter entre 3 a 4 mm de espaço biológico, sem perda de osso de suporte (Charalampakis, 2013; Lindhe et al., 2008; Murray, Knight, Russell, Tawse-Smith, & Leichter, 2013) e com hemorragia á sondagem (Belibasakis, 2014). Segundo Algraft et al. (2012), um desbridamento mecânico é o ideal para remover a placa ou um tratamento mecânico não cirúrgico; o uso deste com cloro-hexidina é eficiente na redução dos sinais inflamatórios e bolsas (Armas et al., 2013). A perimplantite tem um tratamento desafiador e, contrariamente, a mucosite

perimplantar pode ser facilmente tratada sem recurso a métodos cirúrgicos (Salierno, 2013).

Koteswara, Kamalakanth, Lakshmi, & Meerddy (2013), distinguiram-na em 3 tipos: tipo I – localização simples; tipo II – lesão eritmatosa envolvendo uma parte da mucosa coberta com a prótese de maiores dimensões; tipo III- hiperplasia granular na parte central palato duro e geralmente associada aos outros dois tipos.

1.5. Higiene oral em Portadores de Prótese Total

Numa PTIS, se for removível, deve efetuar-se a escovagem dos “attachments” ou barras. No caso de ser fixa, tem-se um acesso limitado ao implante por questões estéticas, assim, de forma a prevenir a acumulação placa, inflamação gengival e infeção dos tecidos debaixo da prótese e em redor do implante são necessários tanto cuidados por parte do paciente, como do higienista, protésico e Médico Dentista.

a) Por parte do paciente deve manter um controlo de 85% da placa, usar escovilhões, fios e fitas interdentários- Figura 10 B (Murgueitio, Dussan, Rios, & Avila-Ortiz, 2014; Sison, 2003) ou mesmo compressas (que podem ou não estar embebidos numa solução de clorhexidina ou outro anti séptico) (Misch, 2007), uso de escovas macias ou uni-tufo, efetuar um complemento da higiene com jacto de água a baixas pressões (Jahn, 2010; Sison, 2003), bochechar com clorhexidina a curto prazo, cloreto cetilpiridínio a 0,05- 0,75%, ou bochecho com óleos essenciais diariamente.

Bürgers, Wittecy, Hahnel, & Gosau (2012) num estudo com 6 antissépticos (hipoclorito sódio, peróxido de hidrogénio, ácido cítrico, clorhexidina, Listerine e Plax) em que culturas puras de *Candida albicans*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus epidermidis* entraram em contacto durante 60 segundos com todos os antissépticos concluiu-se que, à exceção do hipoclorito de sódio, nenhum dos agentes antimicrobianos mostrou um efeito significativo nas 3 bactérias; mas que dada a sua toxicidade, comprova-se que nenhum dos 6 antimicrobianos vulgarmente usados é eficaz no tratamento de infeções de perimplantite.

As PTMS ou as PTIS removíveis devem ser colocadas durante a noite num copo com pastilhas efervescentes numa solução a 0,12% e 2% peróxido ou hipoclorito (Cortelli et al., 2014); em caso de serem mergulhadas em hipoclorito, tal não deve durar mais do que dez minutos e, no caso de não serem colocadas de imediato na cavidade oral, devem ser mantidas num copo com água (Felton et al., 2014). Ainda relativamente

ao uso de pastilhas de peróxido, Duyck, Vandamme, Muller, & Teughels (2013), num estudo com 51 participantes concluíram que o seu uso durante a noite reduzia o biofilme patogénico comparado com a sua preservação noturna a seco ou dentro de água.

Segundo Felton et al. (2014) e Verran et al. (2014), as próteses não devem ser escovadas com o dentífrico usado nos dentes pois cria microporosidades que são mais suscetíveis à colonização bacteriana pois a dureza do acrílico é menor que a do esmalte; deve-se usar uma pasta não abrasiva e Louropoulou, Slot, & Van der Weijden (2014) em relação a PTIS e Swierkot et al. (2013) em relação a implantes, afirmam que o uso de uma escova elétrica tem igual eficácia a uma manual.

Como complemento à higiene, e não apenas em relação ao uso em próteses totais sobre implantes, deve-se recorrer ao jacto de água, que pode também ser usado com soluções desinfetantes, que remove a placa gengival, cálculos, a hemorragia e os mediadores inflamatórios (Lindhe et al., 2008). De modo a conseguir ter um acesso infra gengival é possível adaptar uma ponta específica que permite um acesso facilitado. (Jahn, 2010)

b) Por parte do higienista, deve existir um controlo do nível de placa e inflamação, fazer sondagens com sondas plásticas, verificar problemas como implantes desaparafusados, partidos/rachados, localizações feridas, efetuar o polimento (Misch, 2007; Wingrove, 2011). Embora não esteja provado, segundo (Felton et al., 2014) as próteses devem ser limpas pelo menos uma vez por ano por profissionais através de sistemas de ultra sons.

c) Por parte do médico dentista, no dia da entrega da mesma devem ser explicados os métodos de higiene e deve ainda ocorrer uma observação regular do paciente de 3-4 meses com a realização de radiografias periapicais de 12-18 meses (Misch, 2007) e no primeiro ano após a colocação da prótese, consultas periódicas de 3 em 3 meses (Sison, 2003) e se necessário deve ainda reparar ou descontaminar o implante. Ángeles & Escoda (2004) afirmam que a maioria dos fracassos implantares podem ser controlados pelos médicos dentistas através de um plano de tratamento correto antes da cirurgia implantológica. A necessidade de consultas com uma periodicidade constante permite também controlar o possível aparecimento de mucosite perimplantar e perimplantite (Todescan, Lavigne, & Kelekis-Cholakis, 2012).

d) Por parte do prótesico, o planeamento da prótese deve permitir a passagem de instrumentos de limpeza (Figura 10 A) e, de modo a facilitar a higiene por parte do paciente, podem ser realizados pontos estratégicos - ligeiros desgastes com uma broca diamantada e posteriormente são preenchidos com pigmento azul de baixa viscosidade (Figura 10 C). (Murgueitio et al., 2014) Todo o planeamento da prótese tem de ser metuculoso, tanto que, segundo Laine et al. (2005), o seu planeamento inapropriado é uma das causas mais comuns de falha de implantes. O protésico deve ainda preferir um polimento do acrílico mecânico ao invés de químico pois é mais eficaz (Al-Rifaiy, 2010).

O uso de antimicrobianos pode também ser efetuado utilizando escovas manuais ou elétricas, bem como o mergulhar da escova em cloro-hexidina e aplicar somente na zona do implante de modo a prevenir a coloração das mucosas (Misch, 2007).



Figura 10 – Ilustração da higiene de PTIS fixas (Murgueitio et al., 2014)

2 – Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Em 30 indivíduos reabilitados com próteses totais implantossuportadas pretendemos avaliar o tipo de microflora oral presente e, posteriormente comparar com a microflora oral do estudo realizado por Carvalho et al. (2010) em próteses totais mucossuportadas.

2.2. Objetivos Específicos

Com vista a atingir o objetivo geral deste estudo, identificaram-se os seguintes objetivos específicos:

- a) Avaliar a prevalência, grau colonização e distribuição das espécies bacterianas isoladas no sulco perimplantar de pacientes reabilitados com próteses totais implantossuportadas;
- b) Avaliar a prevalência, grau colonização e distribuição das espécies bacterianas isoladas no rebordo adjacente às próteses totais implantossuportadas;
- c) Comparar a microflora de PTIS e PTMS;
- d) Comprovar se existe relação entre as microfloras.

2.3. Hipóteses em estudo

- a) Hipótese Nula: Inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre a flora bacteriana de doentes portadores de próteses totais implantossuportadas e próteses totais mucossuportadas;
- b) Hipótese alternativa: A flora bacteriana de doentes portadores de próteses totais implantossuportadas e próteses totais mucossuportadas é diferente;

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Questões Éticas

A realização do estudo pressupôs uma autorização por escrito da Direção Clínica do ISCSEM, assim como a necessária aprovação pela Comissão Científica-IMP.EM.PAI.20_00 e de Ética do ISCSEM- IMP.EM.PE.18_00 (Anexo I) do projeto submetido.

Para a execução das colheitas nas três clínicas, o estudo anteviu ainda o preenchimento de três documentos de autorização de recolha de dados, um por cada clínica- IMP.EM.EI.07_02 (Anexo II, III, IV).

Foi também feito o esclarecimento adequado de todos os indivíduos participantes sobre os pressupostos do estudo (Anexo V), assim como assinado o consentimento informado através do IMP.EM.PE.17_02 (Anexo VI).

2. Amostra Estudada

Atendendo aos objetivos definidos, o estudo foi efetuado em pacientes desdentados totais reabilitados com próteses totais acrílicas implantosuportadas, e as recolhas foram realizadas na Clínica Dentária Universitária Egas Moniz, Clínica de Reabilitação Oral Avançada e Centro Médico Dentário de Mafra.

A população em estudo foi constituída por 90 indivíduos, dos quais 60 eram portadores de próteses totais mucosuportadas de um estudo previamente realizado por Carvalho et al. (2010) e 30 portadores de próteses totais implantosuportadas, estudo atual. Na obtenção da amostra das PTIS recorreu-se ao método de amostragem, sendo observados 30 indivíduos adultos entre os 41 e 82 anos, de ambos os sexos.

Critérios de Inclusão:

- Indivíduos portadores de prótese total acrílica implantosuportada há pelo menos 3 meses
- Indivíduos que respeitem as seguintes características: ausência de dor a palpação e percussão do implante, ausência de mobilidade e ausência de exsudado.

- Indivíduos de idade superior a 18 anos;

Critérios de exclusão:

- Indivíduos com antibioterapia em curso;
- Mulheres grávidas;
- Diabéticos tipo I;
- Indivíduo com doença imunossupressora ou outra que possa levar a pouca destreza manual para a higiene oral;
- Mucosite grau II e III.

3. Materiais necessários

Para a realização do exame clínico e protocolo de colheita utilizaram-se os seguintes materiais:

- Material básico: caneta de acetato; esferográfica; impressos; cadeira odontológica; copo descartável; água corrente; corrente para babete e babete; kit básico (espelho, pinça, sonda exploratória, sonda periodontal);
- Material de proteção: luvas, máscara e óculos;
- Material de recolha:
 - Compressas estéreis;
 - Cureta;
 - Zaragotas estéreis;
 - Cones papel estéreis 45/60 (Maillefer ®);
 - Tubo de colheita esterilizado sem meio de transporte para guardar a zaragatoa (deltalab®);
 - Eppendorf esterilizado com meio VMGA-III (fabrico próprio) para colocação dos cones de papel;
 - Rolos algodão;
 - Sani tips;
 - Lâmina de microbiologia (Normax);
- Material para o processamento da amostra:
 - Câmara de fluxo laminar (danLAF VFRS REF 1206);
 - Placa de aquecimento (accublock TM labnetinternational);

- Vórtex (VWR TM mini vortexer)
- Suspension médium 2ml e 5 ml (Biomérieux® REF 70770 e REF 20150);
- Micropipetas (VWRTM labnet autoclavable);
- Saquetas CO₂ (Biomérieux® REF 96126) e jarra para os meios (Oxoid®) e para os testes API (quilab);
- Estufa (Memert®);
- Pipetas de Pasteur 230 mm (Normax®);
- Testes API 20A (Biomérieux® REF 20300), 20Strep (BioMérieux® REF 20600), 20E (Biomérieux® REF 20100) e 20NE (Biomérieux® REF 250);
- Plasma de coelho (Quilabam);
- meios de cultura : COS (BioMérieux ® REF 43041), CNA (BioMérieux ® REF 43071), SCS (BioMérieux ® REF 43401), DRIG (Biomérieux® REF 43341) e MSA2 (Biomérieux® REF 43671);
- Água oxigenada;
- Meio de transporte VMGA (fabrico próprio);
- Eppendorfs (tubo micro centrifuga);
- Teste oxidase (Oxoid microbact MBO266A);
- Teste coagulase (quilabam®);
- Tampão PBS (fabrico próprio);
- Teste Gram (fabrico próprio);
- Ansa descartável (Normax);

4. Metodologia

Como anteriormente referido, o grupo de trabalho englobou 30 pacientes desdentados totais reabilitados com próteses totais acrílicas implanto suportadas.

A) Os indivíduos foram informados, de forma detalhada, verbalmente e por escrito, tendo assinado um documento de consentimento informado de participação, após a sua leitura integral. Com vista a caracterizar o perfil do participante e obter outros dados fundamentais ao estudo, questionaram-se os pacientes acerca dos seguintes itens:

- Identificação, sexo e idade do indivíduo, tendo-se atribuído a cada, um número de código, garantindo a privacidade de cada participante em todos os processos que se seguiram;
- Nos indivíduos portadores de prótese total acrílica implanto suportada, foram assinalados o número de implantes presentes, a data da colocação da prótese e adaptação e mobilidade da mesma;
- Presença de supuração, hemorragia e dor;
- Existência de patologias associadas, tais como: xerostomia, doença auto-imune, queilite, mucosite (se sim, qual o grau), consumo regular de álcool e se é fumador (se sim quantos cigarros fuma por dia);
- Ingestão de terapêutica antifúngica e antibiótica aquando da recolha;
- Higiene oral, nomeadamente o número de vezes em cada dia em que usam ou não, elixir, ou outros meios auxiliares e se mencionam sangramento aquando da escovagem.

Tais informações foram assinaladas na folha de recolha de dados (Anexo VII).

B) Após a formalização do estudo, foi efetuada uma observação clínica da cavidade oral e foram registados os dados relevantes.

C) A colheita das amostras foi realizada nas clínicas recorrendo a zaragatoas e cones papel estéreis que foram colocados em tubos de colheita sem meio de transporte e em eppendorfs com meio de transporte, respetivamente.

4.1. Protocolo Observação Clínica

Uma vez sentado na cadeira odontológica solicitou-se ao participante no estudo, que realizasse um bochecho com água sem qualquer adição de desinfetante de modo a não comprometer a microflora existente. A mucosa foi ainda limpa e a placa supragengival em excesso removida com o auxílio de compressas estéreis secas, rolos de algodão ou recorrendo a uma cureta, quando a quantidade de placa era relevante e com risco de ser empurrada para a bolsa perimplantar.

Com uma sonda periodontal, identificou-se a presença de bolsas de maior profundidade em torno do implante de modo, a facilitar a colocação dos cones de papel.

4.2. Protocolo de Recolha de Amostras

As duas recolhas efetuadas do sulco com cones permitiram conhecer a microflora do espaço perimplantar, enquanto a colheita do rebordo com zaragatoa permitiu primeiramente fazer um exame microscópico direto através do método de Gram e, posteriormente, conhecer a microflora do rebordo.

4.2.1. Para exame microscópico direto

Para recolhas do exsudado da mucosa oral, recorreu-se à técnica mais comum usando uma zaragatoa estéril não invasiva (Figura 11) em que se fez um esfregaço vigoroso da mucosa abrangida pela prótese durante 1 minuto (Lanmont et al., cap 3, 2006), guardando-se a zaragatoa num tubo colheita esterilizado que em poucas horas (no máximo 24 horas), foram enviadas para o laboratório de Microbiologia do ISCSEM para serem processadas.



Figura 11 – Fotografia intra oral (cedida pelo Mestre José Reis) da recolha com zaragatoa estéril

4.2.2. Para identificação da flora microbiana

Ao nível do sulco e de modo a recolher amostras de placa subgengival, foram realizadas recolhas com cones de papel estéreis na zona de maior profundidade (Figura 12) quinze segundos de permanência na mesma e no mínimo 2 cones por bolsa (Lanmont et al., 2006; Shahabouee et al., 2012), os quais foram guardados em meio de transporte VMGA-III 900µl (meio semi sólido que permite a viabilidade dos microrganismos anaeróbios, sem alterar a sua quantidade) para posterior identificação das bactérias.

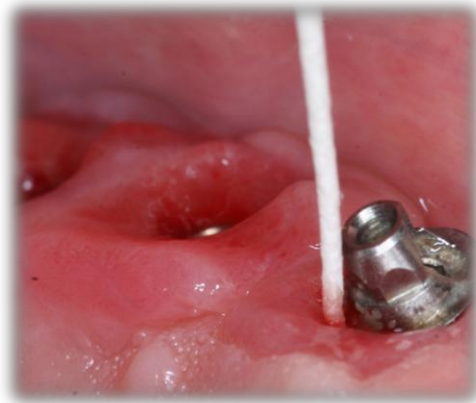


Figura 12 – Fotografia intra oral (cedida pelo Mestre José Reis) aquando da recolha com cones de papel

Para saber qual a zona de maior sondagem, usou-se uma sonda periodontal com pressão ligeira (0.2- 0.3N), valor que segundo Algraffee, Borumandi, & Cascarini, 2012 e Popat, V. Bhavsar, & Popat, 2014 não vai danificar os tecidos em redor do implante.

As amostras foram identificadas com o código do paciente e enviadas em poucas horas (no máximo 24 horas), para o laboratório de Microbiologia do ISCSEM para serem processadas.

4.3. Protocolo de Processamento Laboratorial

Todos os processamentos laboratoriais foram realizados na câmara de fluxo laminar.

4.3.1. Para exame microscópio direto

Já no laboratório efetuou-se o esfregaço e corou-se pelo método de Gram para exame microscópico direto.

4.3.2. Para identificação da flora microbiana

No laboratório de Microbiologia do ISCSEM executou-se o processamento (dispersão e diluição) da amostra em cones de papel. Para tal, colocou-se o meio de transporte VMGA-III que contem os cones de papel numa placa de aquecimento a uma temperatura (35-37°C) e de seguida numa placa de agitação constante durante um

minuto, de forma a liquefazer o gel de agarose semi-sólido e assim obter uma amostra dispersa desagrupando as bactérias. (Lanmont et al., cap4, 2006)

De seguida foram realizadas diluições seriadas (Soares et al., 2009) no meio de diluição *Suspension Medium de Api20A* através da solução mãe (ependorf com o meio de transporte), até obter uma diluição 10^{-3} (1:1000) como demonstra a Figura 13.

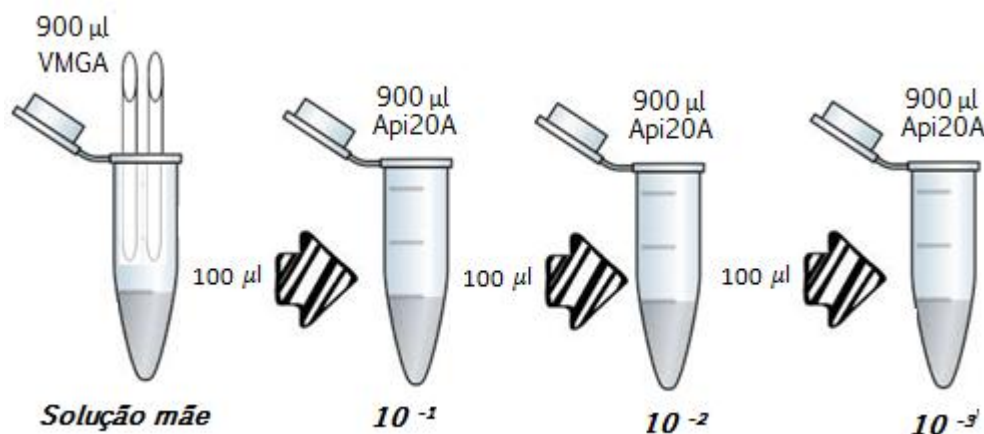


Figura 13 – Esquema Representativo das Diluições Necessárias

4.3.2.1. Identificação de bactérias anaeróbias do sulco e rebordo

Para identificação de bactérias do rebordo recorreu-se à zaragatoa (Figura7) de modo a realizar uma sementeira por estrias com vista ao isolamento de bactérias potencialmente patogénicas.

Para identificação das bactérias do sulco efetuou-se inoculação por espalhamento com o auxílio de espalhadores de vidro (confeccionados partir de pipetas de Pasteur) de 50 µl/placa de cada amostra (solução mãe e das 3 diluições – Figura 13). Ambas as amostras (sulco e rebordo) foram realizadas em diversos meios, do menos para o mais específico: gelose de sangue (COS), gelose de sangue de ácido nalidixico (CNA) e Shalldler (SCS) – Figura 14. Com vista à preservação do DNA bacteriano para eventuais estudos moleculares posteriores, a colheita da zaragatoa foi colocada com 1ml de tampão PBS (fabrico próprio) e conservada a 4°C.

As amostras foram identificadas e incubadas na estufa a 37°C, durante 5 a 7 dias em atmosfera controlada de anaerobiose – colocadas numa jarra selada com um sistema gerador de CO₂ (Lanmont et al., 2006).

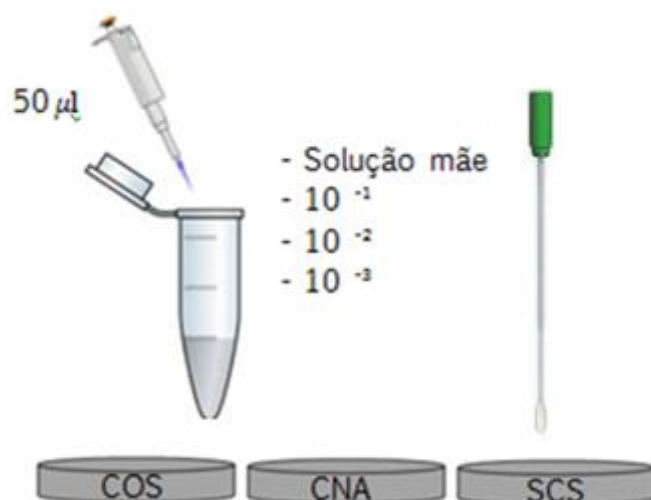


Figura 14 – Representação da Inoculação de Placas da Amostra

Após incubação, a observação e seleção macroscópica das colónias (Figura 15) obedeceu a critérios de seleção para eventual patogenicidade: padrão de hemólise, produção de pigmento escuro ou predomínio de um tipo de colónias.

Após a primeira abordagem sobre as características bacterianas, como a morfologia, cor, consistência, contagens, executaram-se repicagens para o meio SCS, através de ansas descartáveis (normax®) de forma a obter culturas puras para se poderem executar testes de identificação presuntiva (Lanmont et al., 2006).

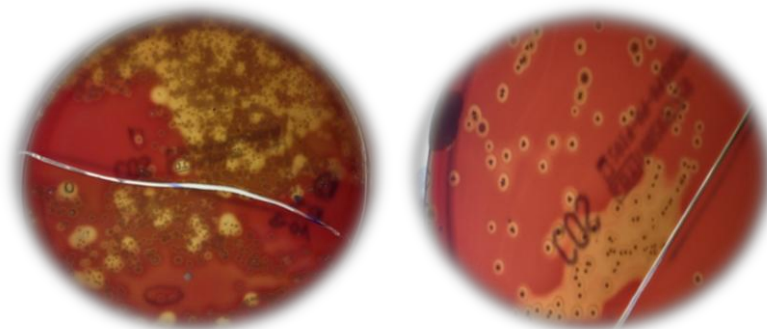


Figura 15 – Crescimento de Diversas Bactérias em Meio COS

A identificação fenotípica implicou a inoculação da galeria de identificação para *Streptococcus* - *Api20Strep* – Figura 16, e para aeróbios - *API20A* – Figura 17, de acordo com as indicações do fabricante, baseado na fermentação de açúcares e presença de vários sistemas enzimáticos.



Figura 16 – Isolamento de uma Bactéria *Streptococcus salivarius* com Api20Strep



Figura 17 – Isolamento com Api20A de uma bactéria a tempo zero

4.3.2.2. Identificação de bactérias aeróbias no sulco e rebordo

Após a realização das diluições seriadas explicadas anteriormente efetuou-se inoculação por espalhamento de 50 μ l/placa de cada amostra (solução mãe e das 3 diluições) e por estrias com a zaragatoa em meio Drigalsky (DRIG) e Manitol Salt Agar (MSA2) - Figura 18.

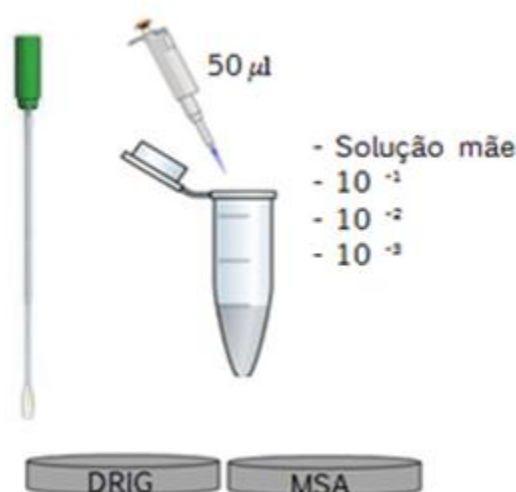


Figura 18 – Representação da Inoculação das Placas para Bactérias Aeróbias

Os meios de cultura foram então incubados a 37°C durante 24h em atmosfera aeróbica.

O meio DRIG, inicialmente verde (Figura 19 A), pode virar para amarelo (Figura 19 B) com crescimento de bactérias indicando a presença de bactérias lactose + ou para azul (Figura 19 C) com crescimento de bactérias o que indica presença de bactérias lactose-. Assim sendo, a interpretação macroscópica dos meios seletivos permitiu conhecer as bactérias que não fermentam a lactose e de seguida verificar se apresentam um perfil oxidativo através da pesquisa da enzima citocromoxidase.

Após incubação e observação macroscópica das culturas do meio DRIG, selecionaram-se as colônias, executaram-se repicagens para o meio TSA e foram incubadas novamente durante 24h, de forma a obter culturas puras para se poderem executar testes de identificação presuntiva (Lanmont et al., 2006). De seguida, realizou-se o teste Oxidase e o estudo dos perfis bioquímicos bacterianos baseados na fermentação de açúcares e na presença de vários sistemas enzimáticos, *Api20E* – *Figura 21* (quando oxidase negativa) para bacilos Gram- que não sejam enterobactérias e *Api 20 NE* (quando oxidase positiva – *Figura 22*) de acordo com as indicações do fabricante.

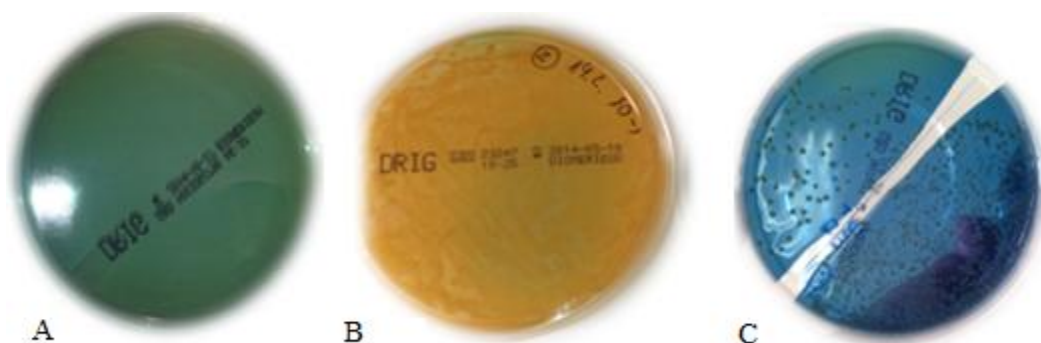


Figura 19 – Observação Macroscópica do Meio de Cultura DRIG



Figura 20 – Teste Oxidase Positiva



Figura 21 – Isolamento de uma bactéria aeróbia oxidase negativa *Klebsiella oxytoca* com Api20E



Figura 22 – Isolamento de uma Bactéria Aeróbia Oxidase Positiva *Pseudomonas* sp.com Api20NE

A visualização da Figura 23 evidencia que o meio de cultura MSA2, inicialmente rosa pálido (Figura 23 A), pode manter-se rosa, embora mais escuro (Figura 23 C), e ter crescimento de bactérias manitol ou virar para amarelo (Figura 23 B) com o crescimento de bactérias manitol +. Esta distinção quanto á fermentação do manitol permite efetuar uma identificação presuntiva de: primeiro *Staphylococcus aureus* e, segundo, diferenciar entre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, sendo esta interpretação confirmada mediante a realização da prova da coagulase.

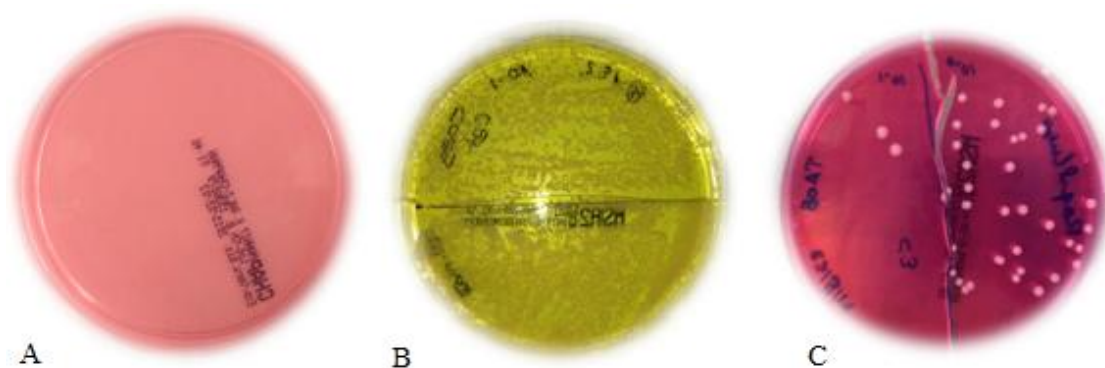


Figura 23 – Observação Macroscópica do Meio de Cultura MSA2

Para este meio foram realizados testes catalase (Figura 24) e coagulase de modo a distinguir entre as espécies *Staphylococcus aureus* (catalase+ e coagulase+) e *Staphylococcus epidermidis*. (catalase+ e coagulase-).



Figura 24 – Teste Catalase Positiva

III. RESULTADOS

1. Identificação e Caracterização dos Grupos

1.1. Amostra do Estudo

1.1.1. Identificação

A amostra em estudo foi constituída por 90 indivíduos, dos quais 60 (67%) eram portadores de próteses totais mucosuportadas (grupo de comparação) e 30 (33%) portadores de próteses totais implantosuportadas (grupo de estudo) como demonstra o Gráfico 1.



Gráfico 1 - Distribuição da Amostra Estudada nos Dois Grupos

1.1.2. Caracterização

A amostra em estudo foi constituída por um total de 90 indivíduos de ambos os sexos, feminino (69%), e masculino (31%), com idades entre os 41 e 91 anos.

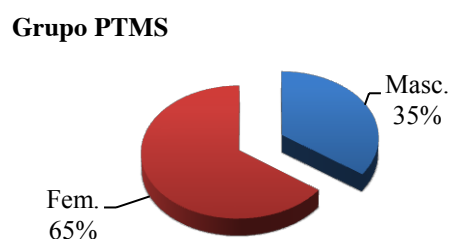


Gráfico 2- Distribuição do grupo de comparação segundo o género

O grupo de comparação - PTMS era constituído por indivíduos de ambos os géneros, feminino (65%) e masculino (35%) com idades entre os 42 e 91 anos – idade

média de 65,6 anos (Gráfico 2) em que 28% (17 pacientes) tinham idades inferiores a 60 anos, 62% situavam-se entre os 60 e 80 anos e apenas 10% tinham idades superiores a 80 anos (Gráfico 4).

O grupo de estudo - PTIS era constituído por indivíduos de ambos os géneros, feminino (77%) e masculino (23%), com idades entre os 41 e 82 anos – idade média de 63,8 anos em que 40% (12 pacientes) tinham idades inferiores a 60, 53% situavam-se entre os 60 e 80 (16 pacientes) e apenas 7% (2 pacientes) tinham idades superiores a 80 anos (Gráfico 4).

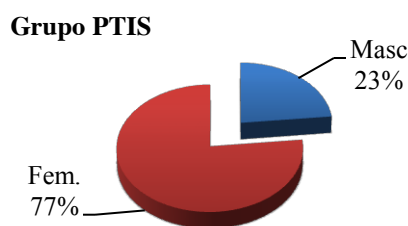


Gráfico 3- Distribuição do grupo de estudo segundo o género

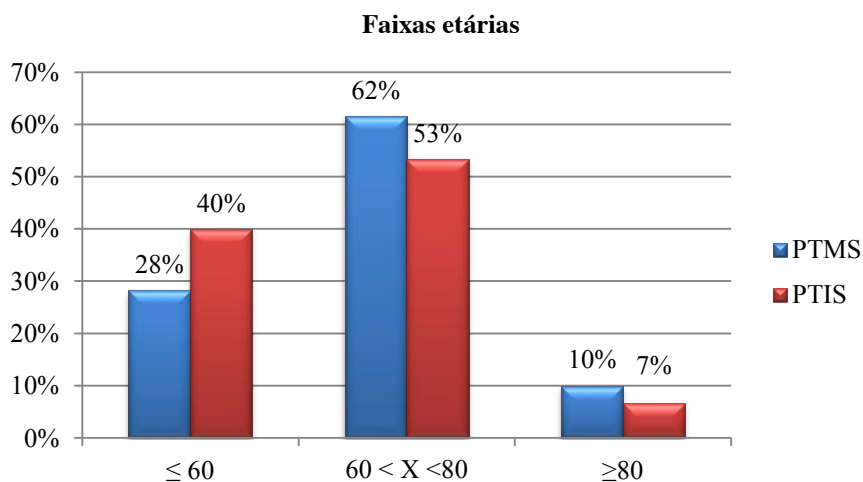


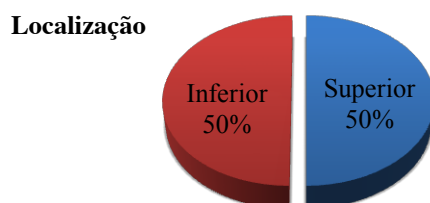
Gráfico 4 - Distribuição do grupo de estudo segundo a idade

1.2. Grupo de Trabalho – Prótese Total Implantosuportada

Foi feita a caracterização do grupo de trabalho quanto a:

1.2.1. Localização da prótese

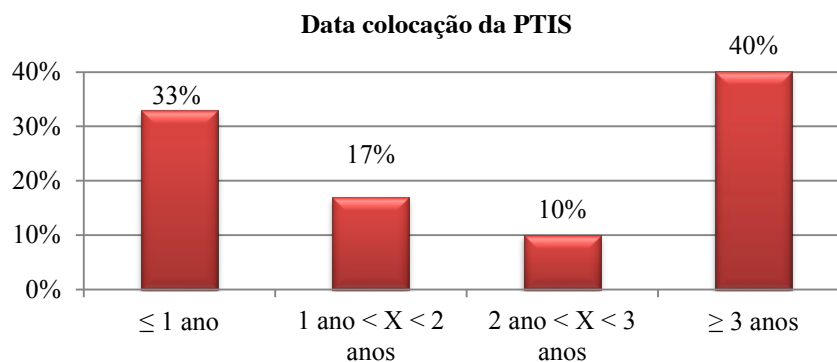
Em relação à localização onde foram realizadas as colheitas nas próteses totais acrílicas implantosuportadas tendo-se obtido um grupo homogêneo em que 50% dos indivíduos tinham próteses superiores e 50% dos indivíduos possuíam próteses inferiores – Gráfico 5.



Gráfico 5 – Localização da prótese

1.2.2. Tempo de uso

Em relação ao período de utilização das PTIS (Gráfico 6), quase metade dos indivíduos (40%) usam-na há mais de 3 anos, cerca de 33% (10 indivíduos) usam há menos de 1 ano, 17% (5 indivíduos) entre 1 ano e 2 anos e 10 % (3 indivíduos) entre 2 e 3 anos. De frisar que em todos os grupos a adaptação da prótese era boa.



Gráfico 6 - Distribuição Segundo a Data de Colocação da Prótese

1.2.3. Higiene oral

Em relação à higiene, 67% dos pacientes lava as próteses 2 vezes ao dia (20 indivíduos), apenas 20% (6 indivíduos) lava as 3vezes recomendadas por dia, 10% (3

indivíduos) lava uma vez ao dia, e apenas 3,3% (1 indivíduo) afirma lavar mais do que 4 vezes ao dia (Gráfico 7).

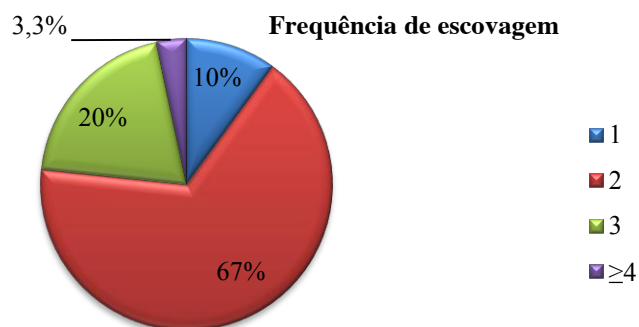


Gráfico 7 - Frequência de Escovagem

Todos os 30 indivíduos escovam diariamente a prótese, sendo que 40% (12 indivíduos) recorrem ao uso de jacto de água, 33% (10 indivíduos) bochecham com elixir, 10% (3 indivíduos) usam fio/escovilhão, 7% (2 indivíduos) bochecham com água oxigenada e apenas 3% utiliza gel (1 indivíduo) (Gráfico 8).

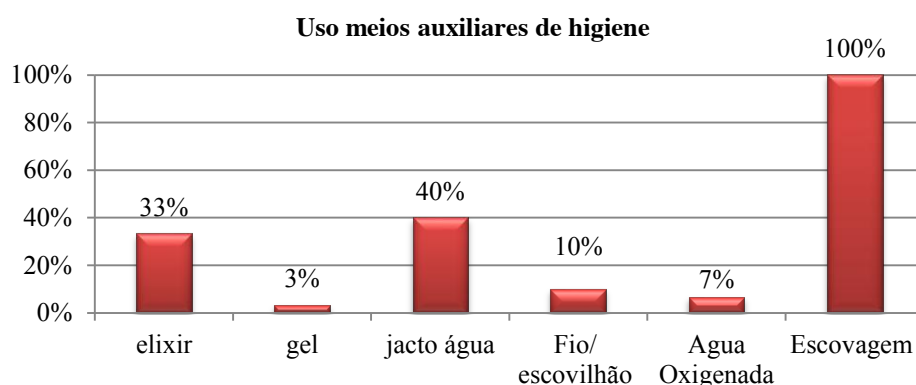


Gráfico 8 - Distribuição dos pacientes segundo os métodos H.O.

1.2.4. Número de implantes em carga

Em relação ao número de implantes em carga nos 30 pacientes (Gráfico 9), temos como mais comum e com uma percentagem de 53% o uso de 4 implantes (16 indivíduos); de seguida 27% (8 indivíduos) com 6 implantes; 14% (4 indivíduos) com 5 implantes e, com 2 e 7 implantes apenas 3% (1 indivíduo) da amostra. Nenhum dos implantes, no ato da recolha, tinha aumento de bolsa perimplantar.

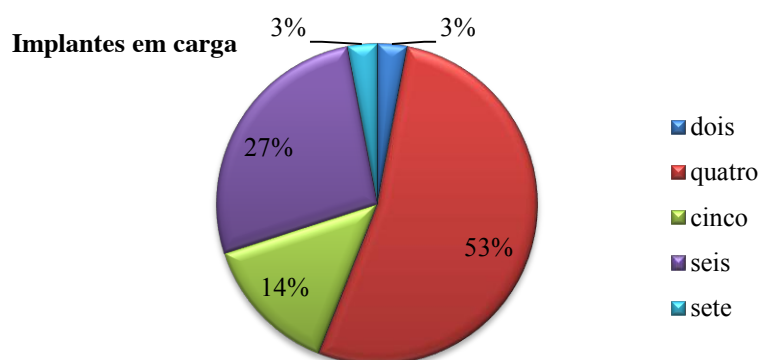


Gráfico 9 – Número de implantes em carga

1.2.5. Presença de sinais inflamatórios

Em relação aos sinais inflamatórios como radiotransparência, supuração, dor, bolsa aumentada, mobilidade e sangramento, apenas 17% dos pacientes apresentavam pelo menos um desses sinais.

1.2.6. Existência de fatores de risco

No total existem 37% (11 pacientes) com pelo menos um fator de risco. Primariamente o tabaco (55% - 6 indivíduos), de seguida, com igual frequência, a existência de doenças e realização de terapêutica (9% - 4 indivíduos) e, em último lugar, o álcool (27% - 3 indivíduos) (Gráfico 10).

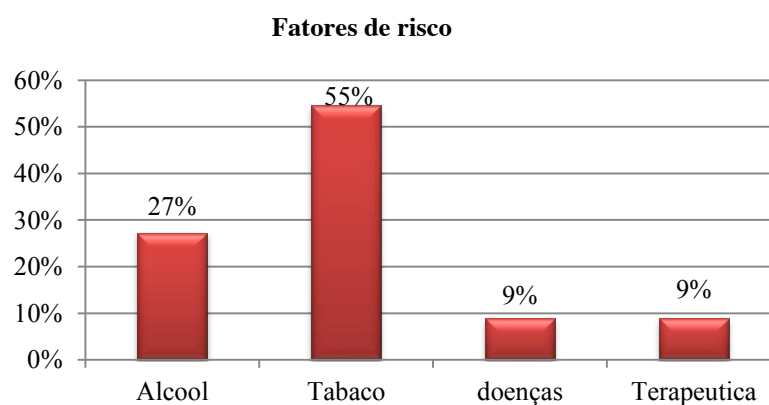


Gráfico 10 – Fatores de risco

2. Identificação e Caracterização da Microflora

O grupo de trabalho (PTIS) foi submetido a duas colheitas, uma ao nível do rebordo, cujos resultados serão comparados com o grupo PTMS, e uma ao nível do sulco perimplantar. Em ambos os locais de recolha foram feitas as culturas de microrganismos que, após crescimento, foram identificados.

2.1 Colheita da PTIS

2.1.1. Identificação dos morfotipos bacterianos

Os Gráficos 11,12 e 13 apresentam os morfotipos bacterianos presentes no sulco e rebordo de PTIS. Assim, observam-se valores semelhantes em relação à presença de cocos Gram +, em ambas as localizações existem poucos bacilos Gram- e, nota-se uma maior percentagem de aeróbios no rebordo e de anaeróbios no sulco.

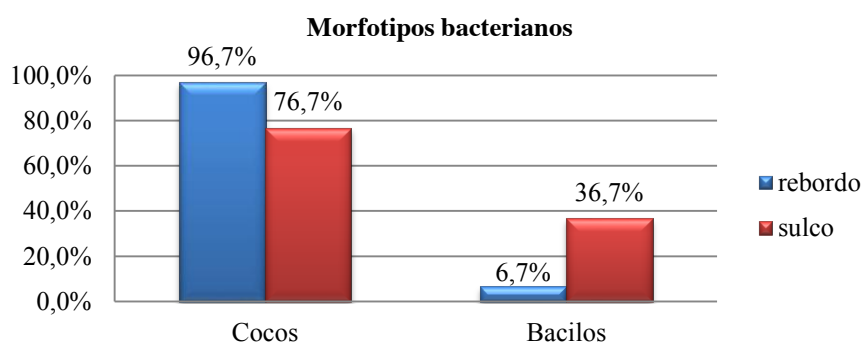


Gráfico 11 – Distribuição da Morfologia nas PTIS

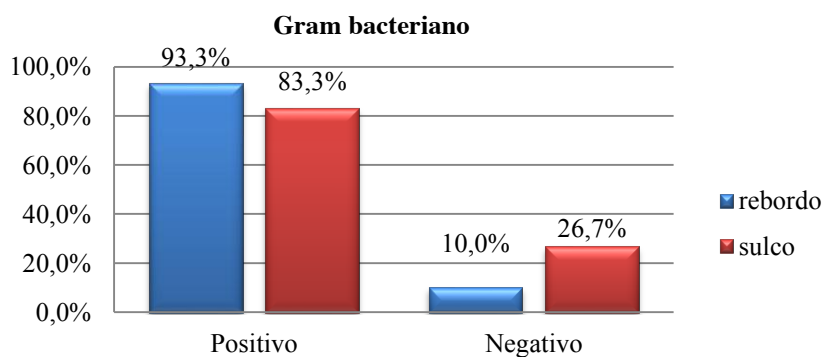


Gráfico 12 – Distribuição do Gram das bactérias nas PTIS

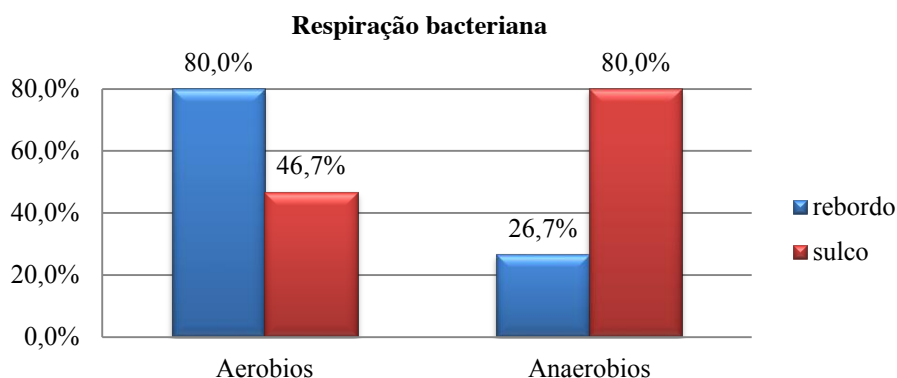


Gráfico 13 – Distribuição das bactérias aeróbias e anaeróbias nas PTIS

2.1.2. Identificação dos microrganismos isolados

Relativamente aos microrganismos encontrados estes foram divididos em 6 grupos: *Staphylococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Actinomycetaceae* e Outros.

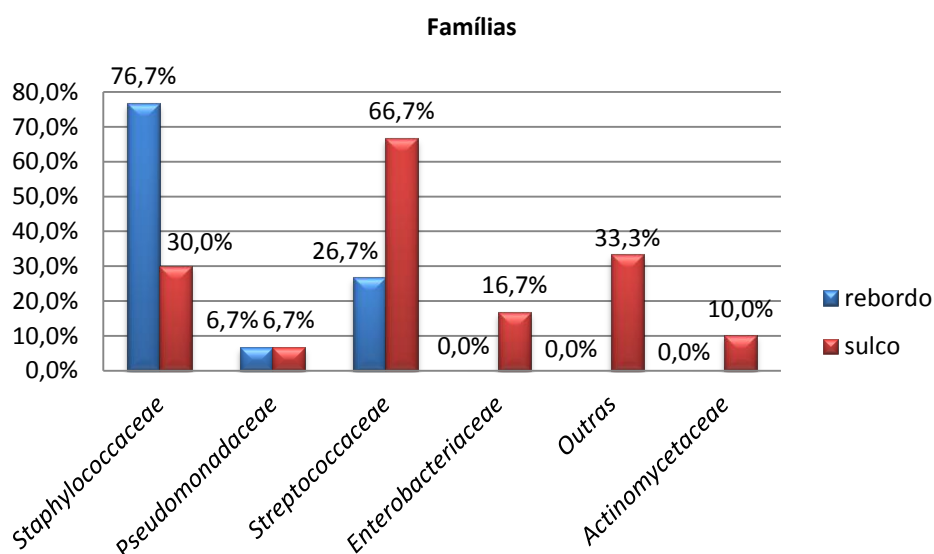


Gráfico 14 – Identificação das famílias bacterianas existentes nas PTIS

Através do Gráfico 14 pode observar-se a inexistência de bactérias da família *Actinomycetaceae* e *Enterobacteriaceae* no rebordo; uma discrepância de mais de 40% de bactérias da família *Staphylococcaceae* e *Streptococcaceae* entre o sulco e rebordo das PTIS e uma percentagem de 6,7% de *Pseudomonadaceae* no sulco e rebordo.

2.1.3. Identificação das espécies de microrganismos do sulco

Staphylococcaceae

Em relação a esta família de bactérias apenas se encontraram 3 espécies: *Staphylococcus aureus* (13,3%), *Staphylococcus epidermidis* (10%) e *Aerococcus viridans* (6,7%) (Gráfico 15).

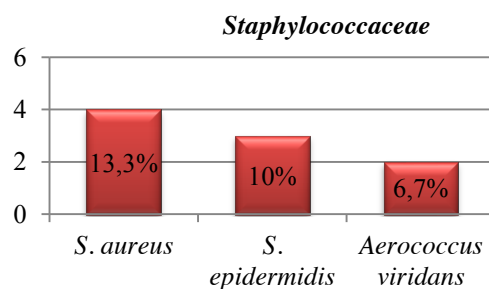


Gráfico 15 – Bactérias *Staphylococcaceae* no sulco

Pseudomonadaceae

Relativamente à família *Pseudomonadaceae* apenas encontramos *Pseudomonas fluorescens* (3,3%) e *Pseudomonas* sp. (3,3%).

Streptococcaceae

Relativamente às bactérias presentes nesta família, é possível observar a sua frequência e percentagem na Tabela 2.

Família	Espécie	n	%
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	2	6,7
	<i>Streptococcus salivarius</i>	4	13,3
	<i>Streptococcus anginosus</i>	1	3,3
	<i>Streptococcus oralis</i>	6	20,0
	<i>Streptococcus intermedius</i>	3	10,0
	<i>Enterococcus faecium</i>	2	6,7
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	3,3
	<i>Streptococcus constellatus</i>	1	3,3
	<i>Streptococcus mitis</i>	1	3,3
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	3,3
	<i>Streptococcus uberis</i>	1	3,3

Tabela 2 – Bactérias da família *Streptococcaceae* presentes no sulco de PTIS

Enterobacteriaceae

Em relação a esta família de bactérias apenas encontramos 4 espécies: *Enterobacter* sp. (3,3%), *Proteus* sp. (3,3%), *Klebsiella oxytoca* (6,7%) e *Morganella morganii* (3,3%) como demonstra o Gráfico 16.

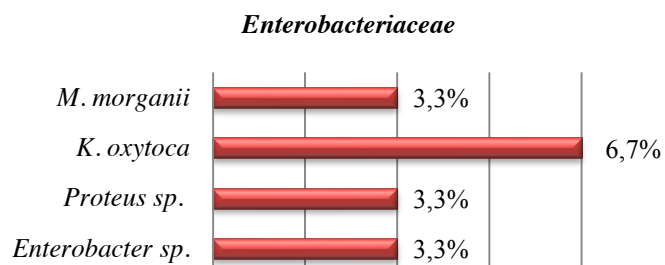


Gráfico 16 – Bactérias da família *Enterobacteriaceae* presentes no sulco

- *Actinomycetaceae* e outras

Em relação a estes dois grupos, as espécies de bactérias e respectivas percentagens e frequências encontram-se na Tabela 3.

	Espécie	n	%
<div> <div>Actinomycetaceae</div> <div>outras</div> </div>	<i>Actinomyces viscosus</i>	1	3,3
	<i>Actinomyces israelii</i>	1	3,3
	<i>Bifidobacterium</i> sp.	1	3,3
	<i>Actinomyces meyeri</i>	1	3,3
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1	3,3
	<i>Prevotella melaninogenica</i>	3	10
	<i>Gemella haemolysans</i>	1	3,3

Tabela 3 – Bactérias da família *Actinomycetaceae* e Outras presentes no sulco de PTIS

2.1.4. Caracterização da microflora perimplantar quanto à patogenicidade

Consideraram-se como bactérias patogénicas a espécie *Staphylococcus aureus* e todas as espécies da família *Pseudomonadaceae* e *Enterobacteriaceae* (Botero, González, Mercado, Olave, & Contreras, 2005; Carvalho et al., 2010; Pereira et al., 2013) sendo que foram encontrados 9 indivíduos com estas bactérias no sulco e 9 no rebordo e um total de 4 indivíduos com bactérias patogénicas encontradas nas duas localizações: sulco e rebordo.

Como mostra a Tabela 4, no rebordo, as espécies patogénicas encontradas são apenas duas e encontram-se presentes em 12 pacientes enquanto no sulco se encontraram 7 espécies distintas numa frequência semelhante - 11 pacientes.

Gêneros	Espécies	Rebordo		Sulco	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Estafilococos	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	33,3	4	13,3
Enterobactérias	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	2	6,7
	<i>Enterobacter</i> sp.	-	-	1	3,3
	<i>Proteus</i> sp.	-	-	1	3,3
	<i>Morganella morganii</i>	-	-	1	3,3
Pseudomonas	<i>Pseudomonas</i> sp.	2	6,7	1	3,3
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	1	3,3
		20		36,6	

Tabela 4 – Microrganismos Patogênicos das PTIS

2.1.5. Colonização bacteriana em função da idade

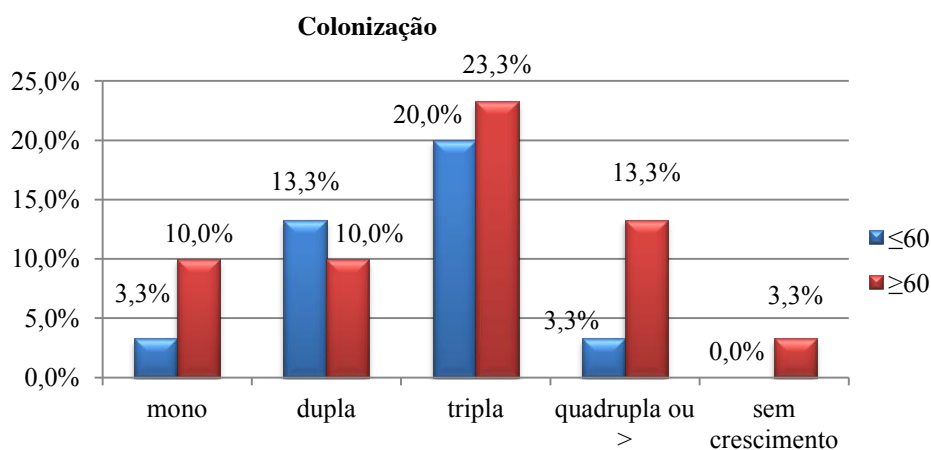


Gráfico 17 – Tipo de colonização em função da faixa etária

Ao comparar a quantidade de espécies encontradas em função da idade (inferior ou superior a 60 anos) observamos (Gráfico 17) que ocorre uma colonização tripla, quadrupla ou superior em maior frequência quando a faixa etária é mais elevada

2.1.5. Relação entre o número de implantes e a presença de bactérias cocos do sulco

Associando as duas variáveis: número de implantes e bactérias com a morfologia cocos, através do teste Fisher ($p=0,025$), é possível afirmar que a presença de cocos depende do número de implantes (≤ 4 ou > 4 implantes), ou seja, não se encontram independentes, mas a sua correlação não pode ser avaliada. (Figura 25)

2.1.6. Relação entre a higiene oral e a presença de bactérias cocos no sulco

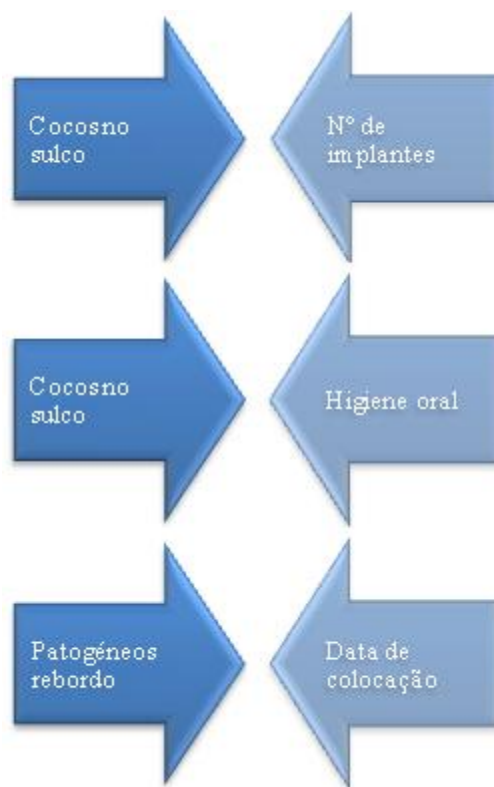


Figura 25 – Relações estatisticamente relevantes nas PTIS

Estas duas variáveis ao serem cruzadas num teste de Fisher, em que o valor de $p=0,033$, podem-se afirmar como dependentes, ou seja, a presença de bactérias cocos no sulco está dependente da higiene oral - do uso de apenas escova ou de escova e outros meios auxiliares de higiene. (Figura 25)

2.1.7. Relação entre a data de colocação e a presença de bactérias patogénicas no rebordo

Ao associar estas duas variáveis e com um resultado do teste Fisher de $p=0,004$, é possível afirmar que a data de colocação das próteses (≤ 3 anos ou > 3 anos) e a presença de bactérias patogénicas no rebordo, se encontram dependentes. (Figura 25)

2.1.8. Relação entre a microflora sulco e a microflora do rebordo

Ao comparar a microflora do sulco e do rebordo: a presença de cocos, bacilos, Gram+, Gram-, aeróbios, anaeróbios, bactérias patogénicas e cada uma das famílias encontradas, não se encontraram nos testes estatísticos Qui-quadrado e Fisher valores de $p < 0,05$ pelo que não é possível afirmar que a microflora do sulco e do rebordo se encontram independentes. (Figura 26)



Figura 26 – Relação entre a microflora do rebordo e sulco de PTIS

2.1.9. Relação entre as bactérias do sulco e rebordo de PTIS e as características da amostra do estudo

Ao associar a presença de bactérias Gram+, Gram-, anaeróbias, aeróbias, bacilos, cocos, e cada uma das famílias de bactérias presentes nas PTIS com o número de implantes, presença de fatores de risco, tempo de utilização da prótese, idade, sexo, prótese superior e inferior, sinais de inflamação, medicação e higiene oral apenas se encontraram com testes estatisticamente relevantes as relações enumeradas em 2.1.5., 2.1.6. e 2.1.7. As restantes correlações não são possíveis pois o valor de $p > 0,05$ nos

testes do Qui quadrado e de Fisher, não sendo possível afirmar qualquer associação entre estes.

2.2. Estudo comparativo da colheita do rebordo de próteses totais mucosuportadas (Carvalho et al., 2010) e implantosuportadas

2.2.1. Identificação dos morfotipos bacterianos

No Gráfico 18, alusivo aos morfotipos bacterianos, nota-se que todos os indivíduos portadores de PTMS possuem bactérias Gram+, cocos e anaeróbios. Relativamente às PTIS as bactérias Gram+ e cocos possuem também uma elevada percentagem (96,7% - 29 indivíduos, e 93,3% - 28 indivíduos) mas, em relação às bactérias anaeróbias apenas existem 8 indivíduos (26,7%) portadores, comprovando assim que existem diferenças estatisticamente relevantes em relação à presença de bactérias anaeróbias e o tipo de prótese ($p < 0,001$ no teste qui-quadrado).

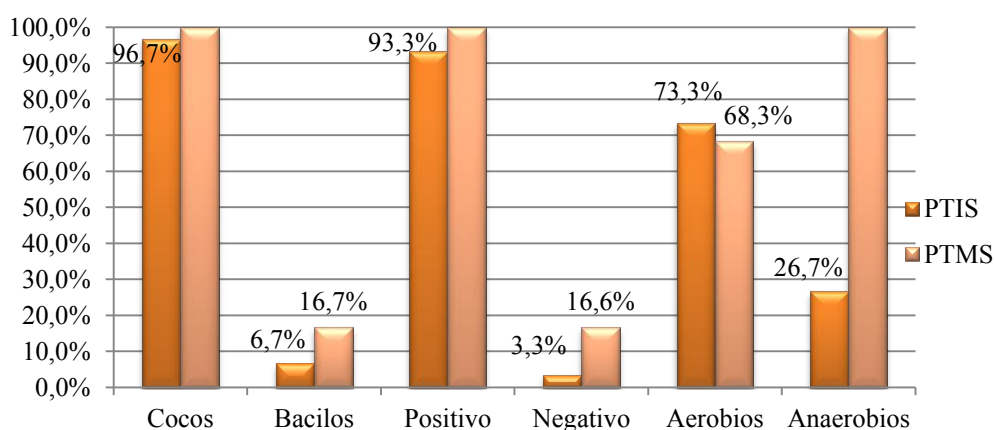


Gráfico 18 – Morfologia e distribuição dos microrganismos bacterianos do rebordo

2.2.2. Identificação dos microrganismos isolados

Na identificação realizada, os microrganismos encontrados na flora oral dos dois grupos foram distribuídos segundo as famílias: *Staphylococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Streptococcaceae* e *Enterobacteriaceae* (Gráfico 19).

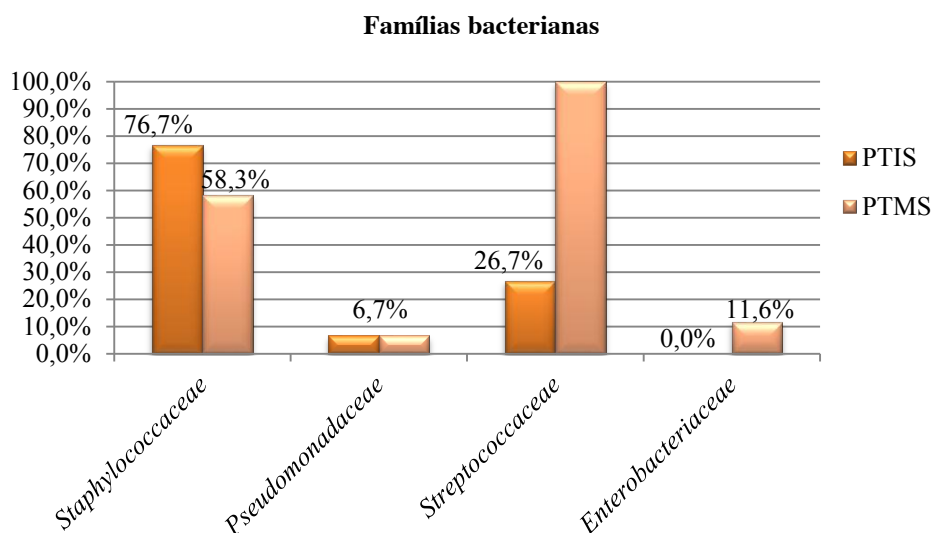


Gráfico 19 – Identificação das famílias bacterianas existentes no rebordo

A observação do Gráfico 19 permite constatar que foram encontrados microrganismos de todas as famílias nos dois grupos exceto *Enterobacteriaceae*, que apenas se encontrava presente nas PTMS. Observa-se também que a quantidade de *Pseudomonadaceae* é igual nos dois grupos (6,7%) e, contrariamente existe uma diferença na quantidade de *Streptococcaceae* (26,7% e 100%) comprovando que existem diferenças estatisticamente relevantes entre os dois tipos de próteses ($p < 0,001$ no teste qui-quadrado).

2.2.3. Identificação das espécies de microrganismos

Em cada umas das famílias bacterianas foram encontradas espécies distintas e nas PTIS não foram encontradas bactérias do gênero *Enterobacteriaceae* pelo que não será elaborada uma comparação estatística.

- *Staphylococcaceae*

Na família *Staphylococcaceae* (Gráfico 20) as únicas bactérias em comum nos dois tipos de próteses foram *Staphylococcus aureus*, encontrado em 33,3% (10 pacientes) das PTIS e em 10% (6 pacientes) das PTMS e o *Staphylococcus epidermidis*

em 43,3% (13 pacientes) e 48,3% (29 pacientes) respetivamente. A bactéria *Aerococcus viridans* apenas se encontrara presente em 3,3% (1 indivíduo) das PTMS.

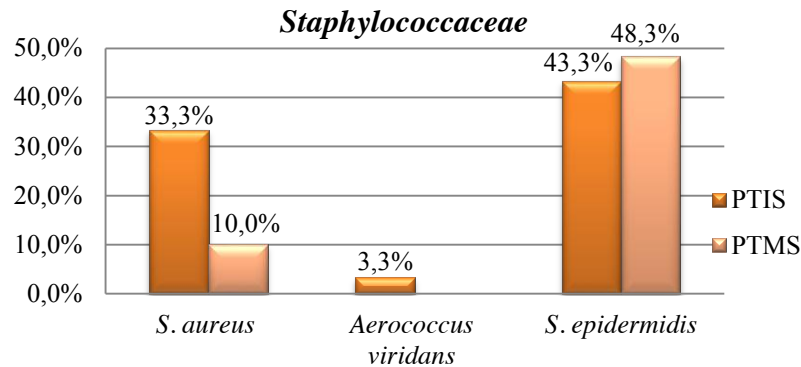


Gráfico 20 – Identificação da família *Staphylococcaceae* presente no rebordo

- *Pseudomonadaceae*

Relativamente a este grupo não é possível efetuar qualquer correlação visto que nenhuma das bactérias encontradas se encontra presente em simultâneo nos dois tipos de próteses. Existe apenas 1,7% (1 paciente) das PTMS com *Pseudomonas oryzihabitans*, 1,7% com *Aeromas hidrophila* e 3,3% (2 pacientes) com *Pseudomonas fluorescens*; nas PTIS apenas 6,7% (2 pacientes) foram encontradas *Pseudomonas sd* (Gráfico 21).

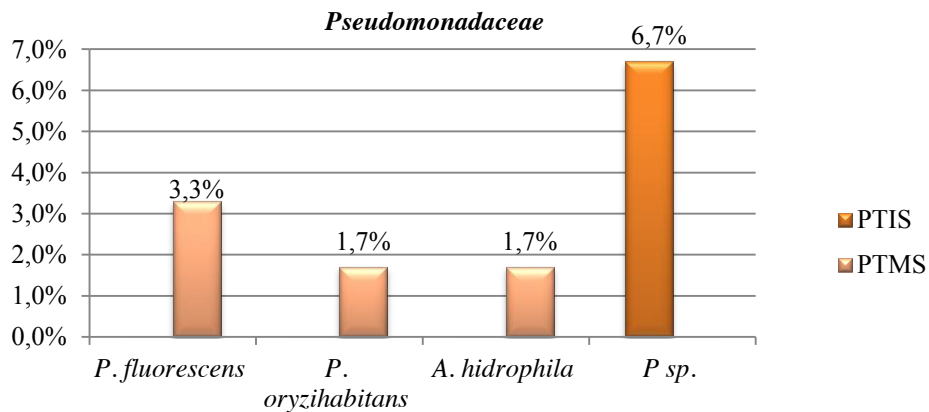


Gráfico 21 – Identificação da família *Pseudomonadaceae* presente no rebordo

- *Streptococcaceae*

Nesta família (Gráfico 22) surgem-nos 3 bactérias diferentes: *Streptococcus uberis* (apenas presente na PTIS em 3,3%), *Streptococcus mutans* e *Streptococcus salivarius* presentes nos dois tipos de próteses em iguais quantidades (PTIS- 16,7% (5

pacientes); PTMS – 50% (30 pacientes) com um valor de $p = 0,02$ do teste do qui quadrado comprovando que os valores são estatisticamente distintos, ou seja, a quantidade desta bactéria depende do tipo de prótese.

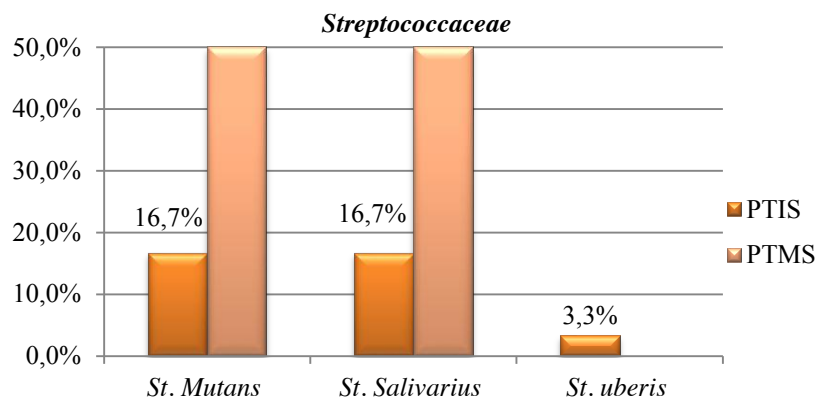


Gráfico 22 – Identificação da família *Streptococcaceae* presente no rebordo

2.2.4. Caracterização da microflora quanto à patogenicidade

As frequências e percentagens das bactérias patogénicas presentes no rebordo de PTIS e PTMS encontram-se na Tabela 5.

Géneros	Espécies	PTIS		PTMS	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Estafilococos	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	33,3	6	10
Enterobactérias	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	3	5
	<i>Enterobacter</i> sp.	-	-	1	1,7
	<i>Serratia</i> sp.	-	-	1	1,7
	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	1	1,7
	<i>Enterobacter amnigenus</i>	-	-	1	1,7
Pseudomonas	<i>Pseudomonas</i> sp.	2	6,7	-	-
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	2	3,3
	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	-	-	1	1,7
	<i>Aeroma hidrophila</i>	-	-	1	1,7
			40		28,3

Tabela 5 – Microrganismos patogénicos presentes no rebordo

De notar que nas PTIS só se encontraram duas espécies patogénicas: *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas* sp. numa frequência total de 12 indivíduos enquanto nas PTMS se encontraram 9 espécies patogénicas numa frequência total de 17 indivíduos.

IV. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo principal comparar a microflora bacteriana de próteses totais mucosuportadas e implantosuportadas e analisar de que modo o crescimento bacteriano varia entre elas; como objetivo secundário, saber qual a microflora do sulco dos implantes saudáveis de próteses totais implantosuportadas.

São vários os estudos sobre a microflora de próteses totais mucosuportadas e sobre implantes unitários com e sem patologia associada contudo, os estudos sobre próteses totais implantosuportadas encontrados na literatura ainda são vagos e geralmente sobre casos clínicos ou associados a *follow-ups*, colocações de *all-on-four* ou de implantes zigomáticos. Concretamente sobre microflora, os estudos encontrados eram insuficientes e antigos, muitas vezes relacionados com a flora fúngica e, até à data, não foram encontrados estudos comparativos da microflora destes dos tipos de próteses, sendo este portanto um estudo pioneiro, o que destaca a importância da sua realização.

Embora este estudo tenha uma amostra relativamente pequena, conseguiu-se identificar várias espécies bacterianas, algumas comuns a vários pacientes e, ainda, conseguir algumas relações estatisticamente significativas.

A metodologia de recolha das amostras do rebordo com o auxílio de uma zaragatoa e no sulco com cones de papel foi semelhante à utilizada noutros estudos anteriores (Ángeles & Escoda, 2004; Carvalho et al., 2010; Freitas et al., 2012; Heuer et al., 2007; Shahabouee et al., 2012; Soares et al., 2009).

Semelhante ao que Furuyama et al. (2012) realizou num questionário realizado a 79 portadores de próteses fixas por implantes e 109 próteses removíveis, constatamos que as próteses fixas eram menos prejudicadas a níveis de qualidade de vida oral que as removíveis.

Nas PTMS (Carvalho et al., 2010) a distribuição do género masculino/feminino foi de 35% e 65% respetivamente e com uma idade média de 65,6 anos. Yasui et al. (2012) efetuaram um estudo com 40 pacientes desdentados totais com próteses removíveis em que 16 eram do sexo masculino e 24 eram do sexo feminino, com uma idade média de 73,5 anos.

Nas PTIS a amostragem foi de 23% do género masculino e 77% do feminino com uma idade média de 63,8 anos, idade próxima à idade média das PTMS. Num

estudo de Devides & Franco (2006) com apenas 15 pacientes (8 mulheres e 7 homens) portadores de PTIS a idade média foi de 59,9 anos; Mertens et al. (2012) no estudo de 17 PTIS 33,3% dos indivíduos eram do sexo masculino e 66,7% do sexo feminino com uma idade média de 55,3 anos; Karousis et al. (2003) com uma amostra de 8 indivíduos tinha 40% masculino e 60% sexo feminino e ainda Soares et al. (2009) com uma amostra de 32 doentes em que 62,5% eram do sexo feminino e 37,5% do sexo masculino com uma idade média de 50,2 anos. Todos os estudos encontrados sobre PTIS possuem uma amostra relativamente pequena e uma percentagem mais baixa de indivíduos do sexo masculino que feminino e as médias de idades variam entre os 50 e os 65 anos.

A idade mais comum em ambos os tipos de próteses situava-se entre os 60 e os 80 anos e alguns pacientes efetuavam terapêutica medicamentosa, Costa (2009) afirma que as “próteses totais são usadas principalmente por idosos, os quais são mais suscetíveis a infeções, devido a alterações imunológicas e distúrbios locais de defesa decorrentes da própria idade, doenças sistémicas, uso de agentes farmacológicos, deficiências nutricionais e exposição a doenças infecciosas”. Tal é verificado no nosso estudo pois a faixa etária mais elevada (superior a 60 anos de idade) apresenta uma maior percentagem de colonização tripla, quadrupla ou superior.

O facto de serem pacientes com uma idade avançada e da higiene poder não ser de qualidade suficiente deve-se recorrer a meios auxiliares de escovagem como o jacto de água que é recomendado na bibliografia (Jahn, 2010), bochechar com elixir e utilizar o fio/escovilhão como os indivíduos da nossa amostragem.

Relativamente ao grupo PTIS, obteve-se uma distribuição bastante homogénea quanto à localização das próteses com 50% de próteses superiores e 50% inferiores, em que 40% dos indivíduos a usavam há mais de 3 anos. Não foram encontrados na bibliografia estudos com PTIS em que se referissem estes dados.

Nas PTIS, todos os pacientes efetuavam escovagem, dos quais 67% efetuava duas vezes ao dia. De notar que, dependendo da força exercida com a escova, a prótese pode ficar danificada se o uso da pasta não for o mais correto (existem produtos próprios para a sua limpeza que não a pasta dentífrica) e a sua abrasão ser elevada levar a microporosidades no acrílico da prótese que são facilmente contaminadas por bactérias (Louropoulou et al., 2014). O uso de métodos de higiene adequados é importante para toda a população e não apenas para os portadores de próteses e está provado que em próteses totais mucosuportadas o uso de escova protética, espuma

antibacteriana e pastilha de limpeza reduz as bactérias patogénicas e o género *Candida* (Carvalho et al., 2010).

O número de implantes em carga numa PTIS também se tem mostrado pouco conciso e no estudo 53% tinham a PTIS fixa em 4 implantes - *all-on-four*. Malo, Nobre, Moss, Molina, & Lopes (2011) num estudo que realizaram concluíram que a taxa de sucesso das PTIS do tipo *all-on-four* tinha 98,1% sucesso aos 5 anos e 94,8% ao fim de 10 anos.

Como sinais inflamatórios nos indivíduos podem existir: radiotransparência, supuração, dor, bolsa aumentada, mobilidade e sangramento que podem estar associados aos implantes (Algraft et al., 2012; Ángeles & Escoda, 2004; Belibasakis, 2014; Mishler & Shiau, 2014). Na amostra estudada foram avaliados estes sinais e constatou-se que apenas 17% pacientes apresentavam pelo menos um destes sinais.

Em nenhum dos 30 indivíduos da amostra, o sulco perimplantar se encontrava com bolsa aumentada. Este fato parece ser positivo pois segundo Shahabouee et al. (2012) nos seus estudos com 50 implantes unitários, verificaram que enquanto as bolsas permanecerem com uma profundidade normal, não existe perimplantite e o médico dentista deve dar ênfase à higiene oral.

Dentro dos fatores de risco, 37% dos pacientes avaliados apresentavam pelo menos um: tabaco (20%), patologias associadas, terapêutica (9%) ou álcool (27%). Os fumadores têm 3,8 vezes mais probabilidade de desenvolver mucosite implantar e 31,6 de desenvolver peri implantite (Cochran & Froum, 2013). Num estudo sobre a alteração da microflora perimplantar decorrente da modificação dos hábitos de higiene oral com 16 próteses unitárias implantossuportadas, 14 próteses parciais fixas por implantes e 2 PTIS (Soares et al., 2009), 71,8% da amostra consumia álcool, 15,63% eram fumadores e 10% efetuava terapêutica medicamentosa.

- **Prótese Total Implantossuportada**

Na comparação rebordo Vs sulco, foram encontradas elevadas percentagens de bactérias do tipo Gram + e cocos tanto no rebordo como no sulco e menor de bacilos e Gram-; mais aeróbios no rebordo e anaeróbios no sulco. Soares et al. (2009) encontrou no sulco de implantes 55% cocos Gram+, 26% bacilos Gram + e 17% cocos Gram-. Num estudo anterior de A. Mombelli, Buser, & Lang (1988) com uma amostragem de 5

pacientes desdentados totais portadores de implantes afirmam que 85% dos microrganismos encontrados eram cocos e 80% eram Gram positivos.

Também Shahabouee et al. (2012) num estudo em implantes encontraram cerca de 78% cocos no sulco e afirmam que a microflora mais comum em implantes saudáveis é Gram positiva (Botero et al., 2005; Heuer et al., 2007; Klokkevold & Newman, 2000; Lang, Wilson, & Corbet, 2000; Lee & Wang, 2010; Mishler & Shiau, 2014; Andrea Mombelli & Décaillet, 2011; Mombelli, 1993; Ricomini Filho et al., 2010; Shibli, Martins, Lotufo, & Marcantonio, 2003; Soares et al., 2009), com cocos (Klokkevold & Newman, 2000; Lee & Wang, 2010; Mishler & Shiau, 2014; Andrea Mombelli & Décaillet, 2011; Soares et al., 2009), alguns bacilos (Klokkevold & Newman, 2000; Lee & Wang, 2010), predominantemente anaeróbia (Ricomini Filho et al., 2010; Shahabouee et al., 2012) e com baixas quantidades de bactérias Gram negativas (Heuer et al., 2007; Mishler & Shiau, 2014; Soares et al., 2009).

Em relação às bactérias aeróbias e anaeróbias, e a confirmar os dados obtidos do estudo, Liébana Urena (1995) é previsível uma maior percentagem de anaeróbios do sulco devido à baixa quantidade de oxigénio e a uma percentagem de aeróbios mais elevada no rebordo devido à presença de oxigénio.

Associado à perimplantite é de esperar uma microflora aeróbia inicialmente (Pöllänen, Paino, & Ihalin, 2013), que evolui para anaeróbia a gram negativos (Belibasakis, 2014; Cochran & Froum, 2013; Lang et al., 2000; Mombelli, 1993; Pye et al., 2009) em especial bacilos (Andrea Mombelli & Décaillet, 2011). No nosso estudo as percentagens de bacilos e Gram negativos no sulco são baixas, no entanto 80% das bactérias são cocos Gram positivos anaeróbias tolerantes.

Relativamente às famílias encontradas: *Staphylococcaceae* encontramos em menor percentagem no sulco; *Streptococcaceae* em maior quantidade no sulco; *Enterobacteriaceae*, *Actinomycetaceae* e do grupo Outros apenas presente no sulco e *Pseudomonadaceae* em baixas percentagens nas duas localizações. Em implantes com patologia associada é de esperar valores elevados de *Staphylococcaceae* em especial *Staphylococcus aureus* (Belibasakis, 2014). Bactérias da família das *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* são encontradas em implantes com perimplantite (Botero et al., 2005) bem como *Streptococcaceae* (Shibli et al., 2003).

Num estudo com 20 pacientes edentulos que colocaram dois implantes mandibulares e em que se realizaram colheitas sistemáticas, ao fim de 2 semanas de colocação não se detetaram bactérias da família *Actinomycetaceae* (van Brakel et al.,

2011); os mesmos resultados foram encontrados num estudo ao fim de 11 anos de colocação de PTIS (Mertens et al., 2012) e Soares et al. (2009) também não encontrou espécies patogénicas com papel etiológico assumido como, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Peptostreptococcus micros* e *Fusobacterium nucleatum*. Mertens et al. (2012) encontraram nas PTIS: *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola* em todos e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em nenhum dos pacientes do estudo.

Na família *Staphylococcaceae* no sulco encontramos *Staphylococcus aureus* (13,3%), valor semelhante ao do estudo de Soares et al. (2009), apesar de Dhir (2013) e Pye, Lockhart, Dawson, Murray, & Smith (2009) afirmarem que esta bactéria tem elevada adesão às superfícies de titânio; *Staphylococcus epidermidis* e *Aerococcus viridans*.

Da família *Pseudomonadaceae* apenas encontramos em muito baixas percentagens as bactérias *Pseudomonas fluorescens* como no estudo de (Soares et al., 2009).

Relativamente à família *Streptococcaceae*, encontraram-se 11 espécies distintas. Também Soares et al. (2009) encontrou no sulco perimplantar antes do protocolo de higiene, *Streptococcus constellatus* (13%) e *Streptococcus intermedius* (29%).

Grover & Shukla (2012, numa revisão bibliográfica, consideraram o *Streptococcus anginosus* como parte da microflora associada ao insucesso de implantes. Belibasakis (2014), considera o *Streptococcus constellatus* como uma bactéria associada a perimplantite que, *in vitro*, tem resistência antibiótica e Teles, Haffajee, & Socransky (2006) afirmam que *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus constellatus* apresentam um grau moderado na evidencia da patogenicidade periodontal.

Nas *Enterobacteriaceae* foram encontradas 4 espécies: *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Klebsiella oxytoca* e *Morganella morganii*.

Na família *Actinomycetaceae* encontramos 4 espécies: *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces israelii*, *Bifidobacterium* sp. e *Actinomyces meyeri*. Soares et al. (2009) encontrou 16% de *Bifidobacterium* sp. e afirma que as espécies *Bifidobacterium* e *Actinomyces* apresentam características patogénicas que desencadeiam doença periodontal.

Por fim, no grupo denominado de “outros”, encontramos três espécies: *Lactobacillus acidophilus* (encontrado em pacientes saudáveis (Ertugrul, Arslan, Dursun, & Hakki, 2013) e *Gemella haemolysans* e *Prevotella melaninogenica* (também

encontrada no estudo de (Soares et al., 2009)). Tal agrupamento deveu-se ao facto de estas espécies se encontrarem fora do panorama geral e em baixas percentagens.

Das bactérias potencialmente patogénicas para o indivíduo, destaca-se a espécie *Staphylococcus aureus*, isolada com maior frequência no rebordo tal como *Pseudomonas* sp. Pelo contrário, as espécies da família *Enterobacteriaceae* bem como *Pseudomonas fluorescens* foram identificadas mais frequentemente no sulco.

No estudo de Soares et al. (2009) encontraram-se bactérias patogénicas que não se encontraram no nosso estudo como *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythus* que comumente são encontradas em elevadas quantidades em floras de implantes com perimplantite (Ata-Ali, Flichy-Fernandez, et al., 2011; de Oliveira et al., 2012; Hultin et al., 2002; Lee & Wang, 2010; Pye et al., 2009; Shahabouee et al., 2012; van Brakel et al., 2011) embora os implantes estejam saudáveis o que, comprova como no nosso estudo a possibilidade de existirem bactérias patogénicas em quantidades mais reduzidas em implantes viáveis. A confirmar esta teoria Casado et al. (2011) concluíram que *Aggregicobacter actinomycetecomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis* e *Treponema denticola* estão presentes nos implantes em condições de saúde e patologia, não estando estritamente relacionados com perimplantite.

No estudo das PTIS apenas conseguimos 3 associações com relevância estatística. Conseguimos então concluir assim que a presença do morfotipo cocos no sulco está dependente do número de implantes ($p=0,025$) e da higiene oral - recurso apenas a escovagem ou a escovagem mais meios auxiliares ($p=0,033$) e que a presença de bactérias patogénicas no sulco não está independente da data de colocação da prótese. Como limitações destes testes temos a incapacidade de saber qual a correlação que ocorre em cada um dos casos pois ao tratar-se de uma variável do tipo dicotómica “presença/ausência”.

Ao comparar a microflora do sulco e rebordo: a presença de cocos, bacilos, Gram+, Gram-, aeróbios, anaeróbios, bactérias patogénicas e cada uma das famílias encontradas, não se encontraram valores de $P < 0,05$ pelo que não é possível afirmar que a microflora encontrada no sulco é igual à microflora isolada no rebordo possivelmente pela influência da disponibilidade de oxigénio, a própria configuração anatómica, que no rebordo pode estar menos protegido e estar mais susceptível à ação antimicrobiana dos métodos e produtos de higienização.

- **Estudo comparativo entre prótese total implantosuportada e prótese total mucosuportada**

De modo a efetuar uma correta comparação entre estes dois tipos de reabilitação oral, os locais de recolha deverão ser comparáveis e portanto o local comum é o rebordo.

Doentes edentulos possuem uma reduzida quantidade de bactérias relacionadas com a periodontite e perimplantite, à exceção de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, que é capaz de sobreviver sem a necessidade de existirem bolsas periodontais ou perimplantares (M Quirynen & Van Assche, 2011).

Em relação aos cocos Gram positivos, encontravam-se em percentagens semelhantes e muito elevadas nas duas próteses; os bacilos e bactérias Gram negativas em percentagens baixas; as bactérias aeróbias em 80% das PTIS e 68,3% das PTMS e, por fim, as bactérias anaeróbias em baixas quantidades nas PTIS (26,7%) e em 100% das PTMS. Também Koopmans, Kippuw, & Graaff (1988) num estudo de próteses totais encontrou maioritariamente bactérias Gram positivas, com 69% de cocos, 35% de anaeróbios, poucos bacilos Gram negativos e predomínio de *Streptococcus* sp.

No estudo, surge uma maior percentagem de bactérias anaeróbias no rebordo e um valor de $p < 0,001$, ou seja, os valores de presença de bactérias anaeróbias nos dois tipos de próteses podem ser regido pela teoria que dependem do tipo de prótese. Tal diferença pode ser devido ao facto de nas bactérias aeróbias termos incorporadas as estritas (*Pseudomonadaceae*) e facultativas (*Staphylococcaceae* e *Enterobacteriaceae*) e nas anaeróbias as tolerantes (*Streptococcaceae*) e as estritas (*Actinomycetaceae*).

De entre as diversas famílias bacterianas as mais comuns foram as *Staphylococcaceae* em ambos os tipos de próteses. Esta família bacteriana é do morfotipo cocos Gram positivos, que são dos primeiros colonizadores (Dhir, 2013) e que se podem manter neste microambiente; assim é natural serem isolados em maior frequência, mesmo para *Staphylococcus aureus*.

Com menor frequência em ambas as próteses temos as famílias *Pseudomonadaceae*; a *Streptococcaceae* em todas as PTMS e em 26,7% PTIS e as *Enterobacteriaceae* apenas se encontravam presentes nas PTMS.

Nos *Staphylococcaceae* encontramos 3 espécies: *Staphylococcus aureus* em 33,3% das PTIS e em 10% das PTMS; *Staphylococcus epidermidis* em 43,3% das PTIS e em 48,3% PTMS; e *Aerococcus viridans* que apenas se encontrou nas PTIS. Pereira et al. (2013), num estudo realizado em próteses removíveis com e sem estomatite concluiu que em ambos os grupos as bactérias do género *Staphylococcus* mais comum eram o *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

Apesar de não existirem espécies comuns na família *Pseudomonadaceae* nos dois tipos de próteses, a presença destas espécies é considerada, segundo Sardi et al. (2010), patogénica e pode ser um indicador ou mesmo levar ao desenvolvimento de patologia orais.

Nos *Streptococcaceae* surgiram 3 bactérias *Streptococcus uberis*, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus salivarius*. A quantidade de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus salivarius* presentes está dependente do tipo de prótese ($P=0,02$).

Monroy et al (2005) afirma que o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* colonizam com frequência a mucosa de pacientes portadores de próteses e, no seu estudo, se encontravam em quantidades de 52,4% (valor bastante diferente do encontrado nas PTMS) e 67,7% (valor semelhante ao encontrado nas PTMS) respetivamente.

A presença da espécie *Streptococcus uberis* é um facto positivo pois esta é apontada como inibidora do crescimento de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, muitas vezes responsável pelo desenvolvimento de perimplantite (Lindhe et al., 2008) que pode conduzir ao fracasso da reabilitação com implantes.

As *Enterobacteriaceae* apenas se encontravam presentes nas PTMS e, sendo estas consideradas potencialmente patogénicas (Botero et al., 2005; Carvalho et al., 2010; Pereira et al., 2013), é sinal de baixo potencial infeccioso das PTIS; este facto parece bastante positivo uma vez que estas espécies são associadas ao desenvolvimento de perimplantites (Belibasakis, 2014; Murray et al., 2013).

Pereira et al. (2013) num estudo comparativo da microflora de próteses removíveis com e sem estomatite encontrou *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella oxytoca* em pacientes com e sem estomatite o que, pode demonstrar que a presença desta família nas PTMS pode não ser um fator preocupante.

Devides & Franco (2006) ao estudar a microflora de desdentados totais antes e depois da colocação de PTIS concluíram que quanto mais tempo os implantes estão

colocados (comparando apos 4 e 6 meses) maior a ocorrência de *Aggregibacter actinomycetecomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. Esta permissa não foi verificada no nosso estudo uma vez que nenhuma destas bactérias foi isoladaem PTIS.

Relativamente aos microrganismos potencialmente patogénicos apenas se encontraram duas espécies nas PTIS (40%): *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas* sp., enquanto na PTMS se encontraram 9 espécies (28,3%). Este facto parece revelar que as PTMS parecem favorecer a variedade de e promover o sinergismo bacteriano.

V. CONCLUSÕES

Tendo em vista os objetivos, geral e específicos, a metodologia utilizada e os resultados obtidos e analisados, a primeira conclusão a retirar é a de atestar o cumprimento do objetivo geral de estudar a microflora oral em pacientes reabilitados com próteses totais implantosuportadas, comparando-a com a microflora bacteriana determinada num estudo anterior (Carvalho et al., 2010) em indivíduos portadores de próteses totais mucosuportadas.

No que corresponde ao objetivos, concluímos que:

- Os indivíduos portadores de PTIS são maioritariamente do sexo feminino;
- Em implantes clinicamente saudáveis é possível que a microflora perimplantar seja maioritariamente constituída por cocos Gram positivos anaeróbios tolerantes;
- É possível identificar, embora em quantidades reduzidas, espécies bacterianas patogénicas normalmente associadas a patologias orais como perimplantite em implantes clinica e radiograficamente saudáveis;
- Em implantes saudáveis não se encontraram bactérias patogénicas como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannarella forsythia*, *Peptostreptococcus micros* e *Fusobacterium nucleatum*;
- A presença do morfotipo cocos no sulco de perimplantar está dependente do número de implantes bem como do tipo de higienização oral;
- Há associação entre a presença de bactérias patogénicas no sulco perimplantar e o tempo de utilização da PTIS;
- Inexistência de relação estatisticamente significativa entre a colonização no rebordo e sulco de PTIS;
- Em implantes clinica e radiograficamente saudáveis, as populações bacterianas são idênticas, mas em menor quantidade, aos casos de patologias orais;
- A presença de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus salivarius* é influenciada pelo tipo de prótese, bem como as bactérias anaeróbias;
- As PTIS demonstram potencial infeccioso menor que as PTMS, no que toca a bactérias patogénicas da família Enterobacteriaceae;

- De um modo geral, as PTIS apresentam menos potencial infeccioso que as PTMS quando a higiene oral é efetuada corretamente.
- Aceita-se a hipótese nula que há diferenças entre as duas próteses;

1. Linhas para Investigações Futuras

Como perspectivas futuras sugerem-se as seguintes linhas e recomendações de investigação:

- O ideal é usar para estes estudos os métodos de diagnóstico *in vitro* moleculares, nomeadamente a metodologia de amplificação AFN em tempo real, que permite detetar com elevada sensibilidade a presença de ADN bacteriano, assim como o número de cópias presente. Assim, será possível detetar a presença de potenciais patogénicos perimplantares cujo crescimento *in vitro* é extremamente fastidioso;
- E é ainda recomendada a repetição do estudo com pacientes com janelas de idades diferentes;
- Recorrer a diferentes sistemas de implantes;
- Possibilidade de recorrer ao uso de meio de transporte para a colheita por zaragatoa;
- Obter uma amostragem de maiores dimensões;
- Utilização de um grupo de controlo;
- Ponderar um estudo comparativo entre PTIS acrílicas e cerâmicas;
- Efetuar um *follow-up* destes indivíduos para ver se ocorrem modificações;
- Efetuar instruções de técnicas de higienização consideradas corretas para avaliar se provoca modificações da microflora.

2. Limitações do Estudo

Limitações ocorrem em todas as dissertações e trabalhos de investigação, cabendo ao investigador identificar as suas consequências e tentar superar os seus efeitos sobre os resultados alcançados.

Considerando todo o trabalho de pesquisa, desde o protocolo submetido à Comissão de Ética até à formulação dos objetivos, trabalho de laboratório e, posterior análise e discussão dos resultados, permitem avaliar as limitações assim como identificar as questões com potencial implicação em pesquisas futuras anteriormente apresentadas.

Na fundamentação teórico-empírica, houve a tentativa de escolher de forma rigorosa e precisa dos trabalhos a rever e os conceitos teóricos a precisar, de modo a integrar os principais contributos para a temática em questão, embora a escassez/ausência de estudos específicos.

Na metodologia, o universo estudado não é representado por uma amostra probabilística, pelo que, as inferências apresentadas não podem ser interpretadas de forma generalizada, devendo atender-se às suas condicionantes. Não existindo garantia de representatividade da amostra, não se podem assim extrapolar os resultados obtidos, com confiança para o universo. Mesmo não representativa estatisticamente, um maior número de indivíduos participantes no estudo teria sido desejável.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abi Nader, S., Eimar, H., Momani, M., Shang, K., Daniel, N. G., & Tamimi, F. (2014). Plaque Accumulation Beneath Maxillary All-on-4TM Implant-Supported Protheses. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, (C). doi:10.1111/cid.12199
- Algraffee, H., Borumandi, F., & Cascarini, L. (2012). Peri-implantitis. *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 50(8), 689–94. doi:10.1016/j.bjoms.2011.11.020
- Aloise, J. (2009). Diferenças importantes durante a mastigação entre dentes naturais e implantes de titânio. Retrieved October 17, 2014, from <http://www.institutosmile.com.br/index.php/diferencas-importantes-durante-a-mastigacao-entre-dentes-naturais-e-implantes-de-titanio/>
- Al-Rifaiy, M. (2010). The effect of mechanical and chemical polishing techniques on the surface roughness of denture base acrylic resins. *The Saudi Dental Journal*, 22(1), 13–17. doi:10.1016/j.sdentj.2009.12.006
- Ángeles, M. S. G., & Escoda, C. G. (2004). Periimplantitis. *Med Oral Patol Cir Bucal*, (1).
- Armas, J., Culshaw, S., & Savarrio, L. (2013). Treatment of peri-implant diseases: a review of the literature and protocol proposal. *Dental Update*, 40(6), 472–4, 476–8, 480. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23971346>
- Ata-Ali, J., Candel-Marti, M., Flichy-Fernandez, A., Penarrocha-Oltra, D., Balaguer-Martinez, J., & Penarrocha, M. (2011). Peri-implantitis: Associated microbiota and treatment. *Medicina Oral Patología Oral Y Cirugia Bucal*, 16(7), e937–e943. doi:10.4317/medoral.17227
- Ata-Ali, J., Flichy-Fernandez, A., Alegre-Domingo, T., Candel-Marti, M., Penarrocha, D., Balaguer-Martinez, J., & Penarrocha, M. (2011). Analysis of the peri-implant microbiota in 90 dental implants and its relationship to crevicular fluid volume.

Medicina Oral Patología Oral Y Cirugia Bucal, 16(7), e944–e947.
doi:10.4317/medoral.17231

- Belibasakis, G. N. (2014). *Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases*. University of Zurich.
- Botero, J. E., González, A. M., Mercado, R. A., Olave, G., & Contreras, A. (2005). Subgingival Microbiota in Peri-Implant Mucosa Lesions and Adjacent Teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol*, 76(9).
- Bozini, T., Petridis, H., Tzanas, K., & Garefis, P. (2011). A meta-analysis of prosthodontic complication rates of implant-supported fixed dental prostheses in edentulous patients after an observation period of at least 5 years. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 26(2), 304–18. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21483883>
- Bürgers, R., Witecy, C., Hahnel, S., & Gosau, M. (2012). The effect of various topical peri-implantitis antiseptics on *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, and *Streptococcus sanguinis*. *Archives of Oral Biology*, 57(7), 940–7. doi:10.1016/j.archoralbio.2012.01.015
- Carvalho, J., Félix, S., & Nascimento, T. (2010). “*Estudo da alteração da microflora em doentes portadores de protese muco-suportada apos a introdução de um protocolo de higienização.*” Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.
- Casado, P., Otazu, I., Balduino, A., de Mello, W., Barboza, E., & Duarte, M. (2011). Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Implant Dent.*, 20(3), 226–35.
- Cavaleiro, I., Proença, L., Félix, S., & Salema-Oom, M. (2013). Prevalence of yeast other than *Candida albicans* in denture wearers. *Journal of Prosthodontics: Official Journal of the American College of Prosthodontists*, 22(5), 351–7. doi:10.1111/jopr.12005
- Charalampakis, G. (2013). *Peri-implantitis from microbial prespective*. University of Gothenburg.

- Cochran, D., & Froum, S. (2013). Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications. *Journal of Periodontology*, 84(4), 436–43. doi:10.1902/jop.2013.134001
- Cortelli, S. C., Costa, F. O., Rode, S. D. M., Haas, A. N., de Andrade, A. K. P., Pannuti, C. M., ... Pedrazzi, V. (2014). Mouthrinse recommendation for prosthodontic patients. *Brazilian Oral Research*, 28 Spec(c), 1–9. doi:10.1590/1807-3107BOR-2014.vol28.0020
- Costa, E. (2009). aspectos: clinico, microbiologico e histopatologico da estomatite por proteses mucosuportadas. Retrieved from <http://www.webartigos.com/artigos/aspectos-clinico-microbiologico-e-histopatologico-da-estomatite-por-proteses-muco-suportadas/22778/#ixzz3HKvIxSvJ>
- Crespo, R. (Programa H. M. S. P. (2012). Edentulismo em análise. Retrieved September 08, 2014, from <http://hmsportugal.wordpress.com/tag/edentulismo/>
- De Boever, A. L., & De Boever, J. a. (2006). Early colonization of non-submerged dental implants in patients with a history of advanced aggressive periodontitis. *Clinical Oral Implants Research*, 17(1), 8–17. doi:10.1111/j.1600-0501.2005.01175.x
- De Oliveira, G. R., Pozzer, L., Cavalieri-Pereira, L., de Moraes, P. H., Olate, S., & de Albergaria Barbosa, J. R. (2012). Bacterial adhesion and colonization differences between zirconia and titanium implant abutments: an in vivo human study. *Journal of Periodontal & Implant Science*, 42(6), 217–23. doi:10.5051/jpis.2012.42.6.217
- De Waal, Y. C. M., van Winkelhoff, A. J., Meijer, H. J. a, Raghoobar, G. M., & Winkel, E. G. (2013). Differences in peri-implant conditions between fully and partially edentulous subjects: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(3), 266–86. doi:10.1111/jcpe.12013
- Dental implants: history of dental implants. (n.d.). Retrieved August 18, 2014, from <http://www.manoimplantai.lt/dantu-implantai/dantu-implantu-istorija/?lang=en>.

- Devides, S. L., & Franco, A. T. D. M. (2006). Evaluation of peri-implant microbiota using the polymerase chain reaction in completely edentulous patients before and after placement of implant-supported prostheses submitted to immediate load. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 21(2), 262–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16634497>
- Dhir, S. (2013). Biofilm and dental implant: The microbial link. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 17(1), 5–11. doi:10.4103/0972-124X.107466
- Duyck, J., Vandamme, K., Muller, P., & Teughels, W. (2013). Overnight storage of removable dentures in alkaline peroxide-based tablets affects biofilm mass and composition. *Journal of Dentistry*, 41(12), 1281–1289. doi:10.1016/j.jdent.2013.08.002
- Ertugrul, A. S., Arslan, U., Dursun, R., & Hakki, S. S. (2013). Periodontopathogen profile of healthy and oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *International Journal of Oral Science*, 5(2), 92–7. doi:10.1038/ijos.2013.30
- Felton, D., Cooper, L., Duqum, I., Minsley, G., Guckes, A., Haug, S., ... Chandler, N. D. (2014). Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: A publication of American College of Prosthodontists. *Journal of the American Dental Association*.
- Ferreira, W., Sousa, J. C., & Lima, N. (2010). *Microbiologia* (pp. 166–219; 324–341; 417–422). Lidel.
- Freitas, A. O. A., Alviano, C. S., Alviano, D. S., Siqueira, J. F., Nojima, L. I., & Nojima, M. da C. G. (2012). Microbial Colonization in Orthodontic min-implants. *Brazilian Dental Journal*, 23, 422–427.
- Furuyama, C., Takaba, M., Inukai, M., Mulligan, R. seann, Igarashi, Y., & Baba, K. (2012). Oral health-related quality of life in patients treated by implant-supported fixed dentures and removable partial dentures. *Clinical Oral Implants Research*, 23, 958–962. Retrieved from http://www.readcube.com/articles/10.1111%2Fj.1600-0501.2011.02247.x?r3_referer=wol&show_checkout=1

- Gallucci, G. O., Doughtie, C. B., Hwang, J. W., Fiorellini, J. P., & Weber, H.-P. (2009). Five-year results of fixed implant-supported rehabilitations with distal cantilevers for the edentulous mandible. *Clinical Oral Implants Research*, 20(6), 601–7. doi:10.1111/j.1600-0501.2008.01699.x
- Gaviria, L., Salcido, J. P., Guda, T., & Ong, J. L. (2014). Current trends in dental implants. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 40(2), 50–60. doi:10.5125/jkaoms.2014.40.2.50
- Goiato, M. C., Dos Santos, D. M., Jr Santiago, J. F., Moreno, a, & Pellizzer, E. P. (2014). Longevity of dental implants in type IV bone: a systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. doi:10.1016/j.ijom.2014.02.016
- Grover, H. S., & Shukla, S. (2012). Microbiology of Dental Implants : A Review of the Literature. *International Journal of Oral Implantology and Clinical Research*, 3(April), 43–46.
- Heitz-mayfield, L. J. A., Mombelli, O. A., & Dent, P. M. (2014). The Therapy of Peri-implantitis : A Systematic Review.
- Heuer, W., Elter, C., Demling, a, Neumann, a, Suerbaum, S., Hannig, M., ... Stiesch-Scholz, M. (2007). Analysis of early biofilm formation on oral implants in man. *Journal of Oral Rehabilitation*, 34(5), 377–82. doi:10.1111/j.1365-2842.2007.01725.x
- Heydecke, G., Zwahlen, M., Nicol, A., Nisand, D., Payer, M., Renouard, F., ... Joda, T. (2012). What is the optimal number of implants for fixed reconstructions: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 23 Suppl 6, 217–28. doi:10.1111/j.1600-0501.2012.02548.x
- Hultin, M., Gustafsson, A., Hallström, H., Johansson, L., Ekfeldt, A., & Klinge, B. (2002). Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*, 13(4), 349–58. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12175371>

- Jahn, C. A. (2010). The dental water jet: a historical review of the Literature, 84(3).
- Karousis, I., Salvi, G., & Heitz-mayfield, L. J. A. (2003). Long term prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10 year prospective cohort study of the ITI dental implant system. *Clinical Oral Implants Research*, 14:329–39.
- Klokkevold, P., & Newman, M. (2000). Current Status of Dental Implants : A Periodontal Perspective. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 15(1), 56–65.
- Kolenbrander, P. E. (2011). *Oral Microbial Communities, genomic inquiry interspecies communication*. ASM press washington, DC.
- Koopmans, A. S. F., Kippuw, K., & Graaff, J. (1988). Bacterial Involvement in Denture-induced Stomatitis. *Journal of Dental Research*, 67(1246- 1250).
- Koteswara, R. P., Kamalakanth, S. K., Lakshmi, K. N., & Meerddy, R. R. (2013). Denture stomatitis: a review. *Indian Journal of Dental Advancements*, 14(3), 217–227. doi:10.5866/2013.511107
- Kwon, T., Bain, P. A., & Levin, L. (2014). Systematic review of short- (5–10 years) and long-term (10 years or more) survival and success of full-arch fixed dental hybrid prostheses and supporting implants. *Journal of Dentistry*. doi:10.1016/j.jdent.2014.05.016
- Laine, P., Salo, A., Kontio, R., Ylijoki, S., Lindqvist, C., & Suuronen, R. (2005). Failed dental implants - clinical, radiological and bacteriological findings in 17 patients. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery : Official Publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 33(3), 212–7. doi:10.1016/j.jcms.2004.12.004
- Lambade, D., Lambade, P., & Gundawar, S. (2014). Implant supported mandibular overdenture: a viable treatment option for edentulous mandible. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 8(5), ZD04–6. doi:10.7860/JCDR/2014/7711.4332

- Lang, N. P., Wilson, T. G., & Corbet, E. F. (2000). Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. *Clinical Oral Implants Research*, 11 Suppl 1, 146–55. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11168263>
- Lanmont, R. J., Burne, R. A., Lantz, M. S., & LeBlanc, D. J. (2006). *Oral microbiology and immunology* (pp. 3–123). ASM press washington, DC.
- Lee, A., & Wang, H. (2010). Biofilm Related to Dental Implants. *Implant Dentistry*, 19(5), 387–393. doi:10.1097/ID.0b013e3181effa53
- Lindhe, J., Lang, N. P., & Karring, T. (2008). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* (5th ed.). blackwell.
- Louropoulou, A., Slot, D. E., & Van der Weijden, F. (2014). Mechanical self-performed oral hygiene of implant supported restorations: a systematic review. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 14 Suppl, 60–9.e1. doi:10.1016/j.jebdp.2014.03.008
- Mahon, C. R., & Manuselis, G. (2000). *Textbook of diagnostic Microbiology* (2^o ed.). W.B. Saunders Company.
- Malo, P., Nobre, M. D. A., Moss, S. M., Molina, G. J., & Lopes, A. (2011). A longitudinal study of the survival of all-on-4 implants in the mandible with up to 10 years of follow-up. *The Journal of American Dental Association*.
- Mané, M. M. O. (2012). *Prótese Fixa Total Implantossuportada : Implantes Inclínados / Angulados e Complicações Protéticas*. Universidade Fernando Pessoa, Porto.
- Marsh, P. D., & Martin, M. V. (2009). *Oral microbiology* (pp. 1–63). Churchill Livingstone.
- McPherson, R., & Pincus, M. (2011). *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* (22nd ed., pp. 1079–10114). Elsevier saunders.
- Mertens, C., Steveling, H. G., Stucke, K., Pretzl, B., & Meyer-Bäumer, A. (2012). Fixed implant-retained rehabilitation of the edentulous maxilla: 11-year results of a

prospective study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 14(6), 816–27. doi:10.1111/j.1708-8208.2011.00434.x

Misch, C. E. (2007). *Prótese sobre Implantes* (1st ed.). Livraria Santos Editora.

Mishler, O., & Shiau, H. J. (2014). Management of Peri-Implant Disease: a current appraisal. *Journal of Evidence Based Dental Practice*. doi:10.1016/j.jebdp.2014.04.010

Mombelli. (1993). Microbiology of the dental implant. *Advances in Dental Research*, 7(2), 202–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8260009>

Mombelli, A., Buser, D., & Lang, N. P. (1988). Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. *Oral Microbiology and Immunology*, 3, 113–120.

Mombelli, A., & Décaillot, F. (2011). The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 38 Suppl 1, 203–13. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01666.x

Monroy, T. B., Maldonado, V. M., Martínez, F. F., Barrios, B. A., Octavio, L., & Vargas, S. (2005). *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Cir Bucal*, 27–39.

Murgueitio, R., Dussan, J., Rios, H., & Avila-Ortiz, G. (2014). Visual labels to facilitate hygiene around implant-supported complete fixed dental prostheses. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. doi:10.1016/j.prosdent.2014.05.026

Murray, C. M., Knight, E. T., Russell, A. a, Tawse-Smith, A., & Leichter, J. W. (2013). Peri-implant disease: current understanding and future direction. *The New Zealand Dental Journal*, 109(2), 55–62. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23767168>

Parithimarkalaignan, S., & Padmanabhan, T. V. (2013). Osseointegration: An Update. *Journal of Indian Prosthodontic Society*, 13(1), 2–6. doi:10.1007/s13191-013-0252-z

- Pereira, C. A., Toledo, B. C., Santos, C. T., Pereira Costa, A. C. B., Back-Brito, G. N., Kaminagakura, E., & Jorge, A. O. C. (2013). Opportunistic microorganisms in individuals with lesions of denture stomatitis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 76(4), 419–24. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.001
- Pöllänen, M. T., Paino, A., & Ihalin, R. (2013). Environmental stimuli shape biofilm formation and the virulence of periodontal pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(8), 17221–37. doi:10.3390/ijms140817221
- Pommerville, J. C. (2013). *Alcamo's Laboratory Fundamentals of Microbiology* (10th ed.). Jones & Bartlett Learning, LLC.
- Popat, D. R. P., V. Bhavsar, D. N., & Popat, D. P. R. (2014). Peri-Implantitis: Management of Ailing, Failing & Failed Dental Implants. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 13(1), 43–46. doi:10.9790/0853-13184346
- Pye, a D., Lockhart, D. E. a, Dawson, M. P., Murray, C. a, & Smith, a J. (2009). A review of dental implants and infection. *The Journal of Hospital Infection*, 72(2), 104–10. doi:10.1016/j.jhin.2009.02.010
- Quirynen, M., De Soete, M., & Van Steenberghe, D. (2001). Infectious risks for oral implants : a review of the literature.
- Quirynen, M., & Van Assche, N. (2011). Microbial changes after full-mouth tooth extraction, followed by 2-stage implant placement. *J Clin Periodontol*, 38(6), 581–9.
- Ricomini Filho, A. P., Fernandes, F. S. D. F., Straioto, F. G., da Silva, W. J., & Del Bel Cury, A. A. (2010). Preload loss and bacterial penetration on different implant-abutment connection systems. *Brazilian Dental Journal*, 21(2), 123–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20640358>
- Sala, E. C., & García, P. B. (2013). *Odontología preventiva y comunitaria* (4º ed.). Elsevier Masson.

- Salierno, C. (2013). Treating Peri-Implant Mucositis in the General Practice. *AEGIS Communications*, 9(6), 6–8.
- Sardi, J. C. O., Duque, C., Mariano, F. S., Peixoto, I. T. a, Höfling, J. F., & Gonçalves, R. B. (2010). Candida spp. in periodontal disease: a brief review. *Journal of Oral Science*, 52(2), 177–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20587940>
- Shahabouee, M., Rismanchian, M., Yaghini, J., Babashahi, A., Badrian, H., & Goroochi, H. (2012). Microflora around teeth and dental implants. *Dental Research Journal*, 9(2), 215–20. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3353701&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Shibli, J. A., Martins, M. C., Lotufo, R. F. M., & Marcantonio, E. (2003). Microbiologic and Radiographic Analysis of Different Dental Implant Surfaces. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 18, 1–8.
- Sison, S. (2003). Implant maintenance and the dental hygienist. *Acess - Special Supplemental Issue*, (may-june).
- Soares, C., Félix, S., & Nascimento, T. (2009). *Estudo da alteração da microflora periimplantar decorrente da modificação dos hábitos de higiene oral*. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.
- Stenlund, P., Murase, K., Stålhandske, C., Lausmaa, J., & Palmquist, A. (2014). Understanding mechanisms and factors related to implant fixation; a model study of removal torque. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 34, 83–92. doi:10.1016/j.jmbbm.2014.02.006
- Swierkot, K., Brusius, M., Leismann, D Nonnenmacher, C., Nüsing, R., Lubbe, D., & Schade-Brittinger, C. M. R. (2013). Manual versus sonic-powered toothbrushing for plaque reduction in patients with dental implants: an explanatory randomised controlled trial. *Eur J Oral Implantol*, 6(2), 133–44.

- Taveira, N., Oliveira, A., Gomes, P., & Nascimento, T. (2008). *Manual Prático de Microbiologia*. Instituto Superior Ciências da Saúde Egas Moniz.
- Teles, R., Haffajee, A., & Socransky, S. (2006). Microbial goals of periodontal therapy. *Periodontol*, 42, 180–218.
- Todescan, S., Lavigne, S., & Kelekis-Cholakis, A. (2012). Guidance for the maintenance care of dental implants: clinical review. *Journal (Canadian Dental Association)*, 78, c107. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23306040>
- Truant, A. L. (2002). *Manual Commercial Methods in Clinical Microbiology*. ASM press washington, DC.
- Turano, J. C., & Turano, L. M. (2004). *Fundamentos de Prótese Total*. Livraria Santos Editora.
- Van Brakel, R., Cune, M. S., van Winkelhoff, A. J., de Putter, C., Verhoeven, J. W., & van der Reijden, W. (2011). Early bacterial colonization and soft tissue health around zirconia and titanium abutments: an in vivo study in man. *Clinical Oral Implants Research*, 22(6), 571–7. doi:10.1111/j.1600-0501.2010.02005.x
- Verran, J., Jackson, S., Coulthwaite, L., Scallan, A., Loewy, Z., & Whitehead, K. (2014). The effect of dentifrice abrasion on denture topography and the subsequent retention of microorganisms on abraded surfaces. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. doi:10.1016/j.prosdent.2014.05.009
- Villa, R., Polimeni, G., & Wikesjö, U. M. E. (2010). Implant osseointegration in the absence of primary bone anchorage: a clinical report. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 104(5), 282–7. doi:10.1016/S0022-3913(10)00146-0
- Volpato, C. Â. M., Garbelotto, L. G. D., Zani, I. M., & Vasconcellos, D. K. de. (2012). *Próteses odontológicas*. livraria santos editora.
- Willey, J., Sherwood, L., & Woolverton, C. (2011). *Prescott's Microbiology* (8th ed.). Mc Graw - Hill International Edition.

- Wingrove, S. S. (2011). Dental implant maintenance: the role of the Dental Hygienist and Therapist, *50*(5), 8–13.
- Yasui, M., Ryu, M., Sakurai, K., & Ishihara, K. (2012). Colonisation of the oral cavity by periodontopathic bacteria in complete denture wearers. *Gerodontology*, *29*(2), e494–502. doi:10.1111/j.1741-2358.2011.00506.x

VII- ANEXOS

ANEXO I

21



Ex.ma Senhora
Raquel Ventura Lucas

Monte de Caparica, 24 de março de 2014

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado "*Estudo comparativo da microflora bacteriana de doentes portadores de prótese totais acrílicas mucosuportadas e implantosuportadas*", foi aprovado por unanimidade.

Queira aceitar os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz


Prof.ª Doutora Maria Fernanda de Mesquita

c.c. - Prof. Doutor Sérgio Félix

EGAS MONIZ – COOPERATIVA DE ENSINO SUPERIOR, CRL
Campus Universitário – Quinta da Granja – Monte de Caparica
2829-511 Caparica

ANEXO II



DECLARAÇÃO

Vimos por este meio declarar que autorizamos a aluna Raquel Lucas, orientada pelo Prof. Dr. Paulo Maurício, à recolha de dados nas nossas instalações.

Clínica de Reabilitação Oral Avançada de Paulo Maurício

Director Clínico



ANEXO III



Exmo. (os). Srs.

Venho por este meio informar que autorizo que a aluna Raquel Ventura Lucas, realize no meu consultório e nos meus doentes a recolha de amostras para a realização de um trabalho subordinado ao tema "ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA BACTERIANA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCO SUPORTADAS E IMPLANTO SUPORTADAS"

Sei que este trabalho será supervisionado pelo Professor Doutor Paulo Maurício, pela Professora Doutora Teresa Nascimento.

Monte de Caparica, 30 de Janeiro de 2014

Atentamente,

ANEXO IV



Clinica Universitária

Declaração da Direção Clínica

Autorização para realização trabalho de projeto final do MMD na Clínica Dentária Universitária Egas Moniz

Excelentíssima Professora Doutora Fernanda de Mesquita

A aluna **Raquel Ventura Lucas**, pode utilizar a Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (CDUEM), para realização da investigação "ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA BACTERIANA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCO SUPORTADAS E IMPLANTO SUPORTADAS".

Aguardo a aprovação da Comissão Científica e da Comissão de Ética, para cedência das instalações e dos doentes da clínica de acordo com o normal funcionamento da Clínica.

A consulta dos processos clínicos somente poderá ser efetuada na CDUEM, dentro de horário a estipular para cada projecto.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos

Monte da Caparica,

Direção Clínica

A handwritten signature in black ink, likely belonging to the Director of the Clinical Clinic.

ANEXO V

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, pretendo desenvolver um **“ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA BACTERIANA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPORTADAS E IMPLANTOSUPORTADAS”**.

Este estudo tem como objetivo “comparar a microflora de doentes com próteses totais acrílicas mucosuportadas com a microflora de doentes portadores de prótese totais acrílicas implantosuportadas.”

De acordo com a literatura, as próteses totais acrílicas apoiadas sobre implantes são cada vez mais utilizados pelos profissionais para realizar reabilitações orais em desdentados totais. No entanto, tem-se verificado vários problemas infecciosos e inflamatórios associados às mesmas. Assim sendo, propomo-nos a estudar a flora microbiana encontrada nas mucosas sob este tipo de próteses, de modo a adequar os tratamentos às necessidades do doente. Para tal, será realizada uma avaliação clínica da cavidade oral do doente participante e respectiva introdução dos dados relevantes num documento.

Após a avaliação clínica do doente participante, será efetuado um esfregaço na mucosa jugal com recurso a uma zaragatoa bem como a introdução de um cone de papel nos tecidos periimplantares. As técnicas anteriormente referidas não são evasivas pelo que, não trazem qualquer dano ao doente participante.

Todas as amostras recolhidas são devidamente catalogadas e enviadas para laboratório para posterior análise. Os dados obtidos são confidenciais e acessíveis unicamente aos investigadores do projeto.

A sua participação é voluntária e anónima, não existindo a necessidade da sua identificação pessoal. Todas as informações recolhidas serão absolutamente confidenciais e estarão abrangidas pelo segredo profissional. Os procedimentos utilizados seguem as normas éticas, não oferecendo riscos de qualquer natureza.

Se o doente recusar participar, isso não afetará de forma alguma a sua relação com os técnicos de saúde ou o seu tratamento.

Muito obrigada pela colaboração!

ANEXO VI

Monte de Caparica, ____ de _____ de ano 201__

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Unidade Curricular de Clínica de Reabilitação Oral III do(a) Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, sob a orientação do Professor Doutor Ignacio Barbero, Prof. Doutor Paulo Maurício e Mestre Teresa Nascimento, solicita-se autorização para a participação no “Estudo comparativo da microflora bacteriana de doentes portadores de prótese totais acrílicas mucosuportadas e implantosuportadas” a “doentes portadores de prótese total acrílica implanto suportada” com o objetivo de “comparar a microflora de doentes próteses totais acrílicas mucosuportadas com portadores de prótese totais acrílicas implantosuportadas.”

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo. Este estudo pode trazer benefícios tais como identificar as bactérias associadas à utilização de prótese total acrílica implantosuportada e estabelecer um tratamento eficaz e direcionado em caso de patologia relacionada com os mesmos.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.

(Riscar o que não interessa)

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)

ANEXO VII

“ESTUDO COMPARATIVO DA MICROFLORA BACTERIANA DE DOENTES PORTADORES DE PRÓTESES TOTAIS ACRÍLICAS MUCOSUPORTADAS E IMPLANTOSUPORTADAS”

IDADE: _____ SEXO: MASCULINO: ☐ FEMININO: ☐

DATA COLOCAÇÃO: _____

PRÓTESE: SUPERIOR ☐ INFERIOR ☐

ADAPTAÇÃO DA PRÓTESE (RX): SIM: ☐ NÃO: ☐

Nº DE IMPLANTES: _____

SINAIS CLÍNICOS DE INFECÇÃO: SUPURAÇÃO: ☐ SANGRAMENTO: ☐ DOR: ☐

BOLSA AUMENTADA: ☐ MOBILIDADE: ☐ RADIOTRANSFERÊNCIA RX: ☐

PATOLOGIAS ASSOCIADAS

DIABETES: ☐ TIPO: _____ XEROSTOMIA: ☐ DOENÇA AUTO IMUNE: ☐ HEPATITE: ☐ _____

QUELITE: ☐ HIV: ☐ MUCOSITE: ☐ GRAU: _____ TABACO: ☐ N.º _____ ALCOOL: ☐

ESTUPEFACIENTES: ☐

TERAPÊUTICA (CORTICO/ANTICOLINÉ/ANTIDEPRE/ANTIBIO/ANTIFUN): _____

_____ FINAL: _____

HIGIENE

ESCOVAGEM Nº VEZES DIA : ____ ELIXIR: ☐ OUTROS MEIOS: ☐ _____

REFERE SANGRAMENTO: ☐

RUBRICA DO CLÍNICO: _____

ANEXO VIII

Técnicas laboratoriais

Coloração de Gram

A coloração de Gram inicia-se com um esfregaço da cultura bacteriológica numa lâmina limpa e fixa-se à chama. De seguida, deixa-se arrefecer e lava-se com água. O primeiro corante a ser usado é o cristal violeta que após um minuto a atuar é removido com água e colocado o lugol (1 minuto). Posteriormente lava-se o esfregaço dos dois lados com álcool – acetona durante alguns segundos (3-4 segundos) e de seguida com água para se poder corar com fucsina diluída durante 1 minuto. Lava-se novamente e deixa-se secar ao ar para que depois se possa observar ao microscópio ótico com a objetiva de imersão a 1000x as bactérias Gram + em roxo e as Gram – em rosa (McPherson & Pincus, 2011; Taveira et al., 2008)

As bactérias Gram + são tratadas com o corante cristal violeta e, de seguida com o lugol que permite uma melhor fixação do corante impedindo que este seja removido com a lavagem do álcool – acetona. Ex: *Staphylococcus* sp.

Contrariamente, as bactérias Gram – são descoradas pelo álcool – acetona através da sua membrana externa. Para que, seja possível a sua observação, é necessário voltar a corar as bactérias, daí o uso da fucsina diluída. Ex: Família das Enterobactérias

Teste da Catalase

É um teste realizado para distinguir entre estafilococos e estreptococos. Com uma ansa deposita-se uma colónia da bactéria em estudo sobre uma gota de água oxigenada numa lâmina de microscópio. Se surgirem bolhas, é porque o microrganismo é catalase positivo (estafilococos) se não, é porque é estreptococos (catalase negativo). A formação de bolhas ocorre pela presença de catalase (enzima intracelular) que decompõe o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) em oxigénio molecular (O_2) segundo uma reação química: $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$. (Taveira et al., 2008)

Teste da coagulase

A capacidade de coagulação do plasma é fruto da coagulase que converte o fibrinogénio em fibrina (insolúvel) permitindo assim distinguir bactérias coagulase + (possivelmente patogénicas) de coagulase – através da formação de um coagulo insolúvel. (Taveira et al., 2008)

Para a realização do teste basta apenas adicionar 500µl da colónia a 500µl de plasma e incubar a 37°C durante 24h. Os resultados podem ser negativo (se não existir qualquer tipo de coagulação) ou positivos se existe formação de fibrina; os positivos podem ainda ser de vários graus consoante os coágulos formados: “1 coágulos pequenos desorganizados; 2 coágulos pequenos organizados; 3 coágulos grandes organizados; 4 todo o conteúdo coagula e não se solta quando o tubo é invertido”. (Taveira et al., 2008)

Teste oxidase

Este teste consiste na presença da enzima oxidase e permite a distinção de bactérias não fermentadoras (oxidase positiva – produção de coloração roxa de imediato após a inoculação da bactéria) e enterobactérias (oxidase negativa). (Taveira et al., 2008)

Testes de revelação fenotípica

Como teste de revelação fenotípica existe o API (20Strep, 20A, 20NE, 20E, entre outros) que permitem através de uma grande quantidade de testes de identificação, encontrar qual o microrganismo presente sem a necessidade de recorrer aos testes convencionais. É um sistema padrão que associa 20-23 testes bioquímicos discriminatórios num sistema de microtubos, permitindo assim identificar um grupo ou espécie de bactérias. Para a realização de reações fermentativas, inserem-se nas cúpulas parafina líquida e a leitura final é feita pela mudança de cor de cada teste após a ação dos metabolitos bacterianos ou pelos agentes de revelação adicionados. (Taveira et al., 2008)

ANEXO IX

Isolamento da Microflora Oral

Meios de cultura

As técnicas que requerem cultura de microrganismos devem conseguir manter um ambiente hostil de crescimento, isolamento e manutenção. Estes podem ser líquidos, semi sólidos ou sólidos e de diferentes tipos: seletivos (se suprimem o crescimento de certos microrganismos em detrimento de outros), diferenciados (difere entre diferentes grupos de microrganismos com base na capacidade de conseguir metabolizar componentes específicos do meio), de enriquecimento, simples, de identificação, de transporte ou de conservação. (Taveira et al., 2008)

COS, CNA e SCS

São tipos de meios enriquecidos com sangue de modo a permitir o crescimento de bactérias que se podem encontrar em número reduzido e que são exigentes a nível nutricional. Estes meios são também diferenciais pois permitem distinguir a existência ou não de hemólise – lise enzimática dos glóbulos vermelhos. Alfa hemolítico (α) são microrganismos caracterizados por uma hemólise incompleta com difusão de pigmento verde em redor da colónia; Beta hemolíticos (β) efetuam hemólise completa e têm uma coloração branca, Gama hemolíticos (γ) não efetuam hemólise. (Taveira et al., 2008)

DRIG

É um meio seletivo composto por lactose, cristal violeta e azul de bromotimol, para enterobactérias Gram -. A inibição das bactérias Gram + é efetuada pelos corantes

presentes no meio. É também um meio diferencial pois dentro das enterobactérias Gram – permite distinguir as que fermentam a lactose. Assim, as enterobactérias Gram – fermentadoras da lactose (lac+) tornam o meio ácido e o indicador de pH (azul bromotimol) torna o meio amarelo. As bactérias Gram – não fermentadoras da lactose (lac-) não acidificam o meio, e este permanece na cor original verde. (Taveira et al., 2008)

MSA2

É um meio seletivo que ao ter uma grande concentração de cloreto de sódio permite apenas o crescimento de estafilococos. Ao ter o manitol na sua composição, é também um meio diferencial, para os *Staphylococcus aureus* que fermentam o manitol ao contrário dos estafilococos não patogénicos que não fermentam. A acidificação do meio por parte dos produtos da fermentação faz o indicador de pH (vermelho de fenol) virar o meio da cor original (rosa) para amarelo. (Taveira et al., 2008)

Técnicas Moleculares

O PCR em tempo real é uma técnica de biologia molecular rápida, precisa e exata que permite a deteção dos genes que codificam fatores de resistência e identificação de microrganismos como bactérias que não crescem ou crescem lentamente em meios de cultura comerciais (Ferreira et al., 2010).